

MARIA FERNANDA AGUIAR CALIÓ



SISTEMÁTICA DE HELIEAE GILG
(GENTIANACEAE)



SÃO PAULO
2009

MARIA FERNANDA AGUIAR CALIÓ

**SISTEMÁTICA DE HELIEAE GILG
(GENTIANACEAE)**

SÃO PAULO

2009

MARIA FERNANDA AGUIAR CALIÓ

**SISTEMÁTICA DE HELIEAE GILG
(GENTIANACEAE)**

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade de São
Paulo, para a obtenção de Título de
Doutor em Ciências, na Área de Botânica.

Orientador: Prof. Dr. José Rubens Pirani

SÃO PAULO

2009

C 154s Calió, Maria Fernanda Aguiar
Sistemática de Helieae Gilg (Gentianaceae) /
Maria Fernanda Aguiar Calió. -- São Paulo : M. F. A. C.,
2009.
230p. : il.

Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica,
2009.

1. Gentianaceae 2. Helieae 3. Filogenia
4. Taxonomia vegetal I. Universidade de São Paulo.
Instituto de Biociências. Departamento de Botânica
II. Título

LC QK 495.G35

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof. Dr. José Rubens Pirani

Orientador

À minha família.

“Não tem mais jeito, João Grilo morreu. Acabou-se o Grilo mais inteligente do mundo. Cumpriu sua sentença e encontrou-se com o único mal irremediável, aquilo que é a marca de nosso estranho destino sobre a terra, aquele fato sem explicação que iguala tudo o que é vivo num só rebanho de condenados, porque tudo o que é vivo morre. Que posso fazer agora?”

“Valha-me Nossa Senhora, / Mãe de Deus de Nazaré!
A vaca mansa dá leite, / a braba dá quando quer.
A mansa dá sossegada, / a braba levanta o pé.
Já fui barco, fui navio, / mas hoje sou escaler.
Já fui menino, fui homem, / só me falta ser mulher.
Valha-me Nossa Senhora, / Mãe de Deus de Nazaré.”

“Levante, Chicó. Não está vendo que sou eu? Estou vivo, rapaz!”

Ariano Suassuna, *Auto da Compadecida*

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meus agradecimentos a todos que contribuíram para a concretização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. José Rubens Pirani, pela dedicação e seriedade com que me orientou na realização deste trabalho e todos aqueles que o precederam. Sua ampla experiência em morfologia e sistemática vegetal contribuiu não somente para o engrandecimento desta Tese, mas também para minha formação acadêmica.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – processo 03/10918-3), pela concessão de bolsa de Doutorado Direto e de auxílio financeiro (Reserva Técnica), indispensável para custeio das despesas relacionadas à pesquisa.

A *International Association for Plant Taxonomy* (IAPT), pela concessão de auxílio financeiro (*IAPT Research Grants Program in Plant Systematics 2006*).

A *National Science Foundation* (NSF – processo 0317612), pela concessão de auxílio financeiro ao projeto “*Phylogeny and biogeography of the neotropical tribe Helieae – Gentianaceae*”, coordenado pela Dra. Lena Struwe (Rutgers, the State University of New Jersey, E.U.A.), que custeou parte da pesquisa desta Tese desenvolvida nos E.U.A.

A *Rutgers State University of New Jersey*, pelo auxílio financeiro concedido para realização de dois estágios de um mês no laboratório da Dra. Lena Struwe.

À Pró-Reitoria de Pós-Graduação da Universidade de São Paulo, pelo auxílio financeiro concedido para participação no “*XVII International Congress of Botany*”, realizado em Viena, Áustria.

Ao Departamento de Botânica e ao Programa de Pós-Graduação em Botânica do IBUSP, pelo excelente curso de pós-graduação.

À Profa. Dra. Lena Struwe (Rutgers, the State University of New Jersey), pelo incentivo à pesquisa em Gentianaceae e por ter compartilhado seus conhecimentos acerca da sistemática da família, disponibilizando literatura de difícil acesso, bem como materiais de herbários estrangeiros. Além disso, a angariação de fundos para pesquisa por parte da Dra. Struwe custeou diversas atividades de pesquisa relacionadas a esta Tese.

À Dra. Katherine B. Lepis (Rutgers, the State University of New Jersey), por ter compartilhado parte dos dados moleculares obtidos durante seu Doutorado, o que permitiu ampliar o escopo deste trabalho e, dessa forma, engrandecê-lo.

À Profa. Dra. Lúcia Garcez Lohmann, por todos os ensinamentos que generosamente transmitiu aos alunos do Laboratório de Sistemática Vegetal desde seu ingresso no IBUSP. Seus conhecimentos sobre sistemática molecular foram imprescindíveis para superar dificuldades encontradas no desenvolvimento deste trabalho. Na fase final do projeto, parte dos procedimentos experimentais foi realizada no recém-criado “Laboratório de Sistemática Molecular”, pelo qual é responsável. Além disso, parte das análises filogenéticas foi efetuada em computador adquirido no âmbito de um de seus projetos de pesquisa.

Ao Dr. Richard C. Winkworth (University of the South Pacific, Fiji), pelo auxílio nas análises filogenéticas do primeiro capítulo desta Tese, bem como por todos os ensinamentos sobre

sistemática molecular repassados aos alunos do Laboratório de Sistemática Vegetal durante cursos ministrados em 2006 e 2007. Sua experiência na área foi também imprescindível para solucionar problemas metodológicos envolvidos na obtenção dos dados moleculares.

Ao Prof. Dr. Renato de Mello-Silva (IBUSP), pelo auxílio na resolução de importantes questões nomenclaturais da tribo Helieae. Além disso, grande parte das análises filogenéticas apresentadas nesta Tese foi efetuada em computador adquirido no âmbito de um de seus projetos de pesquisa.

À Profa. Dra. Mariana Cabral de Oliveira, por ter permitido a utilização da infra-estrutura do Laboratório de Algas Marinhas “Édison José de Paula” (IBUSP) para realização de praticamente toda a seção de biologia molecular desta Tese. Seus conhecimentos sobre técnicas moleculares foram igualmente valiosos para superar as dificuldades encontradas nessa fase do projeto.

Aos alunos do Laboratório de Algas Marinhas do IBUSP “Édison José de Paula”, pela assistência nos procedimentos de extração e amplificação de DNA.

Aos técnicos do Centro de Estudos do Genoma Humano do IBUSP, onde o seqüenciamento de DNA foi realizado.

Aos seguintes colegas pesquisadores, pelo auxílio nas coletas, obtenção de espécimes e/ou fotografias, imprescindíveis para o desenvolvimento do projeto: Benoît Francis Patrice Loeuille, Cláudio Nicoletti de Fraga, Denise Sasaki, Euder Glendes Martins, Fabiana Fatima Begale, George John Shepherd, Herbert Serafim de Freitas, Inês Cordeiro, José Rubens Pirani, Juliana Hanna Leite El Ottra, Juliana Lovo, Katherine Lepis, Leandro Cézanne de Souza Assis, Lia Monguillhott Bezerra, Livia Echternacht Andrade, Livia Godinho Temponi, Marcelo Trovó Lopes de Oliveira, Maria Ana Farinaccio, Matheus Fortes Santos, Maura Albergaria Pena, Maurício Takashi Coutinho Watanabe, Rafaela Campostrini Forzza, Renato de Mello-Silva, Richard Charles Winkworth, Ruy José Válka Alves.

Aos curadores dos herbários cujo acervo fora analisado neste trabalho, pelo auxílio na localização dos materiais e pelas valiosas digitalizações de exsicatas.

À M. Sc. Renata Souza de Oliveira, pela confecção dos mapas de distribuição geográfica que compõem esta Tese.

À Fabiana Fatima Begale, pela solicitude e assistência na localização de materiais de herbário, fundamentais para o desenvolvimento do projeto.

À Dra. Juliana Lovo, pelo companheirismo e constante apoio durante o desenvolvimento desta Tese.

Aos docentes, técnicos e alunos do Laboratório de Sistemática Vegetal do IBUSP, pelo agradável convívio durante a realização deste trabalho.

À minha família, pela compreensão, confiança e apoio desde que ingressei no Doutorado.

Ao meu querido marido, José Eduardo A. R. Marian, pelo envolvimento em todas as fases deste trabalho (do projeto inicial à Tese) e por todo o amor e carinho que me fazem uma pessoa mais feliz.

ÍNDICE

Introdução Geral	1
Capítulo 1 – Filogenia baseada em morfologia e revisão de <i>Prepusa</i> e <i>Senaea</i> (Gentianaceae: Helieae) – plantas raras e endêmicas do leste do Brasil.....	17
Capítulo 2 – Padrões evolutivos em Helieae (Gentianaceae): evidências morfológicas e de seqüências de DNA plastidiais e nucleares	25
Capítulo 3 – Estudo filogenético de Helieae (Gentianaceae) com ênfase nos limites genéricos de <i>Calolisianthus</i> Gilg, <i>Chelonanthus</i> Gilg e <i>Helia</i> Mart., baseado em dados moleculares e morfológicos	29
Capítulo 4 – Nova lectotipificação de <i>Calolisianthus</i> Gilg (Helieae, Gentianaceae).....	89
Capítulo 5 – Revisão de <i>Calolisianthus</i> Gilg (Helieae, Gentianaceae), um gênero endêmico dos campos rupestres e cerrados no Brasil	93
Capítulo 6 – Novas combinações no gênero <i>Chelonanthus</i> Gilg (Helieae, Gentianaceae).....	139
Capítulo 7 – Nova lectotipificação de <i>Helia</i> Mart. e revisão de <i>Helia sensu stricto</i> (Helieae, Gentianaceae)	157
Considerações Finais	177
Resumo	181
Abstract	183
Anexo 1 – Morphology-based phylogeny and revision of <i>Prepusa</i> and <i>Senaea</i> (Gentianaceae: Helieae) – rare endemics from eastern Brazil.....	185
Anexo 2 – Evolutionary patterns in neotropical Helieae (Gentianaceae): evidence from morphology, chloroplast and nuclear DNA sequences.....	209

LISTA DE TABELAS, FIGURAS E APÊNDICES

CAPÍTULO 1

- Figura 1.** *Senaea janeirensis*. A, flores. *Prepusa viridiflora*. B, inflorescência; C, flores, visão frontal. Fotos: Cláudio Nicoletti de Fraga.....21
- Figura 2.** *Prepusa montana*. A, hábito; B, tronco; C, flores. Fotos: Maria Fernanda Calió22
- Figura 3.** *Prepusa connata*. A, planta inteira; B, inflorescência; C, flor, visão frontal. *Prepusa hookeriana*. D, hábito; E, flor, visão frontal. Fotos: A-C, Ruy Válka Alves; D-E, George John Shepherd23

CAPÍTULO 3

- Tabela 1.** Táxons e códigos de acesso ao GenBank para espécies utilizadas nesse estudo. Informações sobre "vouchers" fornecidas apenas para espécimes seqüenciados nesse estudo (indicados por "X"). * = amostras trabalhadas no Laboratório de Algas Marinhas "Édison José de Paula" (IBUSP). Nomes "informais" apresentados com aspas. Ref. 1: Presente estudo; Ref. 2: Thiv et al. (1999); Ref. 3: Mansion e Struwe (2004); Ref. 4: Struwe et al. (2009); Ref. 5: Frasier et al. (2008); Ref. 6: Chassot et al. (2001); Ref. 7: Yuan e Kupfer (1995); Ref. 8: Hagen e Kadereit (2001); Ref. 9: Chen et al. (2005); Ref. 10: Yuan et al. (2003); Ref. 11: Gould e Struwe (2004).....53
- Tabela 2.** Nome das matrizes e respectivos conjuntos de dados e de táxons; tipo de sistema de busca empregado nas análises; número de árvores retidas e utilizadas para construção da árvore de consenso estrito na análise de parcimônia58
- Tabela 3.** Características das matrizes individuais e combinadas: número de táxons, caracteres totais, *indels*, caracteres constantes e variáveis, e caracteres informativos para parcimônia. Estatísticas das árvores resultantes: comprimento das árvores, CI, RI, HI, número de nós com valores de probabilidade posterior de análise Bayesiana maiores que 0.85 (topologia da parcimônia / topologia da Bayesiana).....59
- Figura 1.** Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Grande com *indels*", i.e., incluindo dados moleculares e morfológicos, e todos os táxons. Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas. Asterisco indica táxons incluídos nas análises apenas com dados morfológicos61
- Figura 2.** Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Média com *indels*", i.e., incluindo dados morfológicos e moleculares, e apenas táxons com dados para ao menos uma das partições moleculares. Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas62
- Figura 3.** Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Pequena com *indels*", i.e., incluindo dados morfológicos e moleculares, e apenas táxons com dados para as três partições. Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas63
- Figura 4.** Seis caracteres morfológicos mapeados sobre a filogenia de Helieae obtida com a análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Grande com *indels*" (táxons dos grupos-externos foram removidos). Lista de caracteres morfológicos e matriz com codificações são encontradas nos Apêndices A e B. (a) Agregação dos grãos de pólen (car. 88), (b) Alças na exina (car. 91), (c) Indumento na margem dos lobos do cálice (car. 39), (d) Filetes em seção transversal (car. 69), (e) Região escurecida no ápice dos lobos da corola (car. 57), (f) cor principal da corola (car. 44).....64
- Figura 5.** Seis caracteres morfológicos mapeados sobre a filogenia de Helieae obtida com a análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Grande com *indels*" (táxons dos grupos-externos foram removidos). Lista de caracteres morfológicos e matriz com codificações são encontradas nos Apêndices A e B. (a) Estruturas interestipulares (car. 20), (b) Forma do ápice do botão floral (car. 55), (c) Posição das anteras na antese (car. 70), (d) Espessura da exina na região equatorial (car. 91), (e) Hábito (car. 1), (f) Corola no fruto (car. 53).....65

Figura 6. Mapeamento das áreas geográficas onde ocorrem as espécies amostradas de Helieae, codificadas de acordo as Províncias Biogeográficas <i>sensu</i> Cabrera e Willink (1980). Árvore modificada com base na topologia obtida com a análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Grande com <i>indels</i> " (táxons dos grupos-externos foram removidos). Nomes informais entre aspas	66
Apêndice A. Caracteres morfológicos e respectivos estados utilizados nesse estudo. Detalhes sobre os caracteres em Struwe et al. (2009).....	67
Apêndice B. Matriz de dados morfológicos empregada nas análises filogenéticas. Táxons com nomes informais estão indicados entre aspas. Na matriz, táxons polimórficos foram representados com letras: a = 0/1; b = 1/2; c = 0/2; d = 0/1/2; ? = dados ausentes	72
Apêndice C. Inserções e deleções (<i>indels</i>) de ITS recodificados usando o método de "simple indel coding". Para cada <i>indel</i> , os estados 0 e 1 indicam, respectivamente, a ausência e presença do <i>indel</i>	75
Apêndice D. Inserções e deleções (<i>indels</i>) de 5S-NTS recodificados usando o método de "simple indel coding". Para cada <i>indel</i> , os estados 0 e 1 indicam, respectivamente, a ausência e presença do <i>indel</i>	75
Apêndice E	
Figura E1. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Grande sem <i>indels</i> ", i.e., incluindo dados moleculares e morfológicos, e todos os táxons. Porcentagens de <i>bootstrap</i> e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas. Asterisco indica táxons incluídos nas análises apenas com dados morfológicos	76
Figura E2. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Média sem <i>indels</i> ", i.e., incluindo dados morfológicos e moleculares, e apenas táxons com dados para ao menos uma das partições moleculares. Porcentagens de <i>bootstrap</i> e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.....	77
Figura E3. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Pequena sem <i>indels</i> ", i.e., incluindo dados morfológicos e moleculares, e apenas táxons com dados para as três partições. Porcentagens de <i>bootstrap</i> e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.....	78
Figura E4. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Morfologia" (inclui todos os táxons). Porcentagens de <i>bootstrap</i> e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.....	79
Figura E5. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "ITS com <i>indels</i> " (inclui apenas táxons com dados de ITS). Porcentagens de <i>bootstrap</i> e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas	80
Figura E6. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "ITS sem <i>indels</i> " (inclui apenas táxons com dados de ITS). Porcentagens de <i>bootstrap</i> e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas	81
Figura E7. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "5S-NTS com <i>indels</i> " (inclui apenas táxons com dados de 5S-NTS). Porcentagens de <i>bootstrap</i> e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.....	82
Figura E8. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "5S-NTS sem <i>indels</i> " (inclui apenas táxons com dados de 5S-NTS). Porcentagens de <i>bootstrap</i> e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.....	83
Figura E9. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Molecular Média com <i>indels</i> ", i.e., incluindo apenas dados moleculares, e somente táxons com dados para ao menos uma das partições moleculares. Porcentagens de <i>bootstrap</i> e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.....	84
Figura E10. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Molecular Média sem <i>indels</i> ", i.e., incluindo apenas dados moleculares, e somente táxons com dados para ao menos uma das	

partições moleculares. Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.....85

Figura E11. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Molecular Pequena com *indels*", i.e., incluindo apenas dados moleculares, e somente táxons com dados para as duas partições moleculares. Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas 86

Figura E12. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Molecular Pequena sem *indels*", i.e., incluindo apenas dados moleculares, e somente táxons com dados para as duas partições moleculares. Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas87

CAPÍTULO 5

Figura 1. *Calolisanthus bellissimus*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C, face abaxial da folha; D, botão floral; E, flor isolada, visão lateral; F, cálice rebatido, evidenciando coléteres na região interior; G, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; H, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; I, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; J, estames (faces abaxial e adaxial), com representação esquemática da seção transversal do filete; K, gineceu, com representação esquemática da seção transversal do estilete; L, detalhe do estigma; M, fruto com cálice e corola persistentes. Todos desenhados a partir de *Calió & al. 87* (SPF) 121

Figura 2. *Calolisanthus pedunculatus*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C-E, variação foliar, face abaxial; F, flor, visão lateral; G, cálice rebatido, evidenciando coléteres na região interior; H, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; I, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; J, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; K, estames (visão abaxial e adaxial); L, gineceu; M, detalhe do estigma. Todos desenhados a partir de *Calió & al. 173* (SPF), exceto (C) de *Giulietti et al. CFCR 1319* (SPF) e (E) de *Lovo & al. 145* (SPF) ... 122

Figura 3. *Calolisanthus pendulus*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C, face abaxial da folha; D, flor, visão lateral; E, cálice rebatido, evidenciando coléteres na região interior; F, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; G, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; H, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; I, estames (visão abaxial e adaxial); J, gineceu; K, detalhe do estigma. Todos desenhados a partir de *Calió & al. 86* (SPF) 123

Figura 4. *Calolisanthus speciosus*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C, face abaxial da folha; D, detalhe dos nectários extra-florais na face abaxial da folha; E-F, variação floral, visão lateral; G, cálice rebatido, evidenciando coléteres na região interior; H, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; I, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; J, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; K, estames (visão abaxial e adaxial); L, gineceu; M, detalhe do estigma. Todos desenhados a partir de *Watanabe & al. 116* (SPF), exceto (A-D) de *Calió & al. 105* (SPF) e (F) de *Calió & al. 109* (SPF)..... 124

Figura 5. *Calolisanthus bellissimus*. A, hábito; B, flor, visão frontal; C, flor com corola rebatida. *Calolisanthus pendulus*. D, hábito; E, flor, visão frontal. Fotos: B-C, Lívia Temponi; demais, Maria Fernanda Calió 125

Figura 6. *Calolisanthus pedunculatus*. A, hábito; B-C, variação floral, visão lateral; D-G, variação floral, visão frontal. Fotos: A, Katherine Lepis; B, Richard Winkworth; C, Lívia Echternacht; D, Juliana Lovo; E, Marcelo Trovó; F-G, Maria Fernanda Calió 126

Figura 7. *Calolisanthus speciosus*. A, hábito; B, inflorescência; C-D, variação floral, visão frontal. Fotos: A, Lia Bezerra; B-C, Benoît Loeuille; D, Marcelo Trovó 127

Figura 8. Distribuição geográfica. A, *Calolisanthus bellissimus*; B, *Calolisanthus pedunculatus* 128

Figura 9. Distribuição geográfica. A, *Calolisanthus pendulus*; B, *Calolisanthus speciosus* 129

Apêndice A. Lista de exsicatas, indicando coletor e número, número da espécie no tratamento taxonômico e herbários. Negrito = espécimes-tipo; scan = imagem digitalizada da exsicata. *Calolisianthus bellissimus* = 1; *Calolisianthus pedunculatus* = 2; *Calolisianthus pendulus* = 3; *Calolisianthus speciosus* = 4. 131

CAPÍTULO 6

Figura 1. *Chelonanthus abditus*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C, face abaxial da folha; D, flor, visão lateral; E, cálice rebatido; F, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; G, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; H, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; I, estames (faces abaxial e adaxial); J, gineceu; K, detalhe do estigma. Todos desenhados a partir de *Heringer & al. 3340* (UEC) 149

Figura 2. *Chelonanthus amplissimus*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C, face abaxial da folha; D, botão floral; E, flor, visão lateral; F, cálice rebatido; G, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; H, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; I, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; J, estames (faces abaxial e adaxial); K, gineceu; L, detalhe do estigma. Todos desenhados a partir de *Calió & Sasaki 66* (SPF) 150

Figura 3. *Chelonanthus abditus*. A, ramo com folhas; B, flor, visão lateral; C, flor, visão frontal. *Chelonanthus amplissimus*. D, hábito; E, flor, visão frontal. Fotos: A-C, Marcelo Trovó; D-E, Denise Sasaki 151

Figura 4. Distribuição geográfica. A, *Chelonanthus abditus*; B, *Chelonanthus amplissimus* 152

Apêndice A. Lista de exsicatas, indicando coletor e número, número da espécie no tratamento taxonômico e herbários. Negrito = espécimes-tipo; scan = imagem digitalizada da exsicata. *Chelonanthus abditus* = 1; *Chelonanthus amplissimus* = 2. 153

CAPÍTULO 7

Figura 1. *Helia brevifolia*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C, face abaxial da folha; D, botão floral; E, flor, visão lateral; F, cálice rebatido; G, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; H, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; I, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; J, estames (faces abaxial e adaxial); K, gineceu; L, detalhe do estigma. Todos desenhados a partir de *Trovó & al. 316* (SPF), exceto (A) e (D) de *Calió & al. 169* (SPF)..... 169

Figura 2. *Helia oblongifolia*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C, face abaxial da folha; D, inflorescência; E, flor, visão lateral; F, cálice rebatido; G, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; H, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; I, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; J, estames (faces abaxial e adaxial); K, gineceu; L, detalhe do estigma. Todos desenhados a partir de *Calió & al. 205* (SPF) 170

Figura 3. *Helia brevifolia*. A, hábito; B, folhas dispostas em roseta; C, inflorescência jovem; D, flor, visão lateral; E-F, flor, visão frontal. Fotos: Marcelo Trovó 171

Figura 4. *Helia oblongifolia*. A, hábito; B, inflorescência jovem; C, inflorescência madura; D, flor, visão lateral; E, flor, visão frontal. Fotos: Maria Fernanda Calió..... 172

Figura 5. Distribuição geográfica. A, *Helia brevifolia*; B, *Helia oblongifolia* 173

Apêndice A. Lista de exsicatas, indicando coletor e número, número da espécie no tratamento taxonômico e herbários. Negrito = espécimes-tipo; scan = imagem digitalizada da exsicata. *Helia brevifolia* = 1; *Helia oblongifolia* = 2. 175

— INTRODUÇÃO GERAL —————

INTRODUÇÃO GERAL

1. Gentianaceae

Gentianaceae Juss. é uma família de Angiospermae que se distribui praticamente por todas as regiões terrestres do globo (exceto Antártica), ocupando uma grande variedade de habitats e apresentando uma grande diversidade morfológica (Albert & Struwe 2002). Os membros da família variam amplamente quanto ao hábito, podendo ser árvores (e.g. *Anthocleista* R.Br., *Potalia* Aubl.), arbustos (e.g. *Prepusa* Mart., *Symbolanthus* G. Don), trepadeiras (e.g. *Lagenanthus* Gilg, *Purdieanthus* Gilg) ou, mais freqüentemente, ervas. A maioria é autotrófica, embora existam representantes saprofíticos (como *Cotylanthera* Blume, *Voyria* Aubl.). A venação das folhas é, em geral, acródroma, mas há espécies em que a venação é pinada e geralmente broquidódroma (e.g. *Macroparpea* Gilg, *Tachia* Aubl.). As flores apresentam-se normalmente agrupadas em inflorescências, entretanto há casos em que são solitárias (e.g. *Saccifolium* Maguire & Pires, *Voyria*). As flores são freqüentemente tetrâmeras ou pentâmeras, ocorrendo também flores trímeras (*Pycnosphaera* Gilg), hexâmeras (e.g. *Prepusa*, *Senaea* Taub.) e 8-16-meras (e.g. *Anthocleista*, *Potalia*). Usualmente a corola é actinomorfa, embora haja espécies com corolas zigomorfas (e.g. *Chelonanthus* Gilg, *Symbolanthus*). A coloração do cálice pode variar entre verde, alva, amarela, laranja ou vinho, e a da corola entre azul, roxa, rosa, vermelha, amarela, alva ou verde. O fruto é freqüentemente seco e de paredes finas, mas pode ser também fibroso ou coriáceo, como em *Symbolanthus*, ou carnoso, como em *Chironia* L. e *Potalia* (Struwe *et al.* 2002; Gentian Research Network 2009).

Apesar dessa grande variação morfológica, a família é caracterizada pela seguinte associação de características: folhas opostas; ausência de látex e estípulas; presença de coléteres; corola gamopétala com prefloração contorcida (ou sem prefloração valvar ou imbricada); filetes adnatos à corola; ovário súpero (ou ausência de ovário ínfero), bicarpelar, com glândulas ou disco nectaríferos na base e com placentação parietal; e ausência de estigma subdividido (Calió 2009; Judd *et al.* 2002; Simpson 2006; Stevens 2008; Struwe *et al.* 2002). Dentre todas essas características, a única considerada exclusiva de Gentianaceae, considerando apenas Gentianales, é a placentação do tipo parietal (Albert & Struwe 2002). As demais, apesar de permitirem o fácil reconhecimento de Gentianaceae, são, na verdade, sinapomorfias de níveis hierárquicos mais abrangentes, ou representam a ausência de uma determinada autapomorfia que caracteriza famílias proximalmente relacionadas (presença de estado plesiomórfico). Por exemplo, folhas opostas, coléteres e corola com prefloração contorcida são sinapomorfias da ordem em que se insere a família

(Gentianales). Presença de látex, estigma subdividido, ovário ínfero e prefloração imbricada ou valvar são, respectivamente, atributos diagnósticos de Apocynaceae, Gelsemiaceae, Rubiaceae e Loganiaceae, pertencentes à ordem Gentianales; como visto acima, a ausência desses atributos é utilizada para caracterizar Gentianaceae. A presença de disco nectarífero, outra característica utilizada no reconhecimento das gencianáceas, é compartilhada com as demais famílias de Gentianales, bem como com Lamiales e Solanales. Estames epipétalos e ovário bicarpelar, por sua vez, são sinapomorfias das Euasterídeas (APG 1998, 2003). Por fim, a presença de corola gamopétala é comum a todas as Asterídeas (Albert & Struwe 2002).

Quimicamente, a situação é semelhante, pois, apesar da grande variedade de compostos secundários típicos de Gentianaceae (Jensen & Schripsema 2002), a família é caracterizada tanto pela ausência de alcalóides, cuja presença é sinapomorfia de Gentianales, como pela presença de seco-iridóides e xantonas, atributos compartilhados com Loganiaceae, Apocynaceae e Gelsemiaceae (Albert & Struwe 2002).

Embora haja dificuldade em se delimitar o *bauplan* da família (Albert & Struwe 2002), Gentianaceae, descrita por Jussieu (1789), foi universalmente aceita em classificações subseqüentes e, atualmente, aparece muito bem sustentada em todos os trabalhos de filogenia molecular (APG 1998, 2003; Backlund *et al.* 2000; Bremer & Struwe 1992; De Laet & Smets 1996; Struwe *et al.* 1994, 1998). A circunscrição do grupo não mudou muito desde sua descrição, exceto pela exclusão de Menyanthoideae Gilg (Wagenitz 1964), inclusão de Potalieae (antigamente parte de Loganiaceae; Leewenberg & Leenhouts 1980) e inclusão de Saccifoliaceae (antigamente uma família monotípica; Maguire & Pires 1978; Struwe *et al.* 1998, 1999; Thiv *et al.* 1999). Em sua circunscrição mais atual, Gentianaceae é formada por cerca de 1690 espécies agrupadas em 87 gêneros (Albert & Struwe 2002).

Gentianaceae apresenta grande importância econômica, visto que muitas espécies da família são cultivadas para uso em ornamentação (como *Eustoma* Salisb., *Exacum* L., *Gentiana* L. e *Sabatia* Adans.), bem como para extração de substâncias de valor medicinal (e.g. *Centaurium* Hill., *Chironia*, *Gentiana* e *Swertia* L.) e flavorizantes (Heywood 1978; Jensen & Schripsema 2002; Judd *et al.* 2002).

2. As tribos: classificação e caracterização

Em 1895, Gilg segregou muitas das espécies conhecidas até então em gêneros palinologicamente distintos, agrupando-os em tribos de acordo com suas semelhanças polínicas. Apesar das classificações anteriores terem se baseado em caracteres florais (Grisebach 1839; Bentham 1876), os quais seriam de mais fácil acesso aos taxonomistas,

foi o sistema de Gilg o adotado nos trabalhos posteriores, de enfoque principalmente florístico (e.g. Maguire 1981, Maguire & Boom 1989).

Mais recentemente, o uso de seqüências de DNA plastidial, especificamente *trnL* intron e *matK*, contribuiu com o aumento do conhecimento acerca das relações filogenéticas dentre as Gentianaceae (Struwe *et al.* 1998, 2002; Thiv *et al.* 1999). Os resultados desses estudos sustentaram somente parte das tribos propostas por Gilg, levando Struwe *et al.* (2002) a apresentarem uma nova classificação no nível genérico e de tribos, que, apesar de se basear apenas em dados moleculares, apresenta grande congruência com dados de morfologia externa (Mészáros *et al.* 2002), palinológicos (Nilsson 2002) e químicos (Jensen & Schripsema 2002). Foram reconhecidas 6 tribos monofiléticas – Saccifolieae, Exaceae, Chironieae, Gentianeae, Potalieae e Helieae – além de um gênero com posicionamento incerto, *Voyria* (Struwe *et al.* 2002). Essa é a classificação que vem sendo aceita pelos pesquisadores de Gentianaceae e a que foi adotada na presente Tese.

Saccifolieae é formada por cinco gêneros (três monoespecíficos) e cerca de 20 espécies, todas neotropicais, mas com ocorrência mais concentrada no escudo das Guianas (Struwe *et al.* 2002). Algumas das espécies têm distribuição muito restrita, como *Saccifolium bandeirae* Maguire & Pires, que ocorre no Pico da Neblina, na fronteira entre Venezuela e Brasil (Struwe *et al.* 1998), e *Hockinia montana* Gardner, que ocorre na Serra dos Órgãos (RJ, Brasil; Gardner 1843). Também faz parte dessa tribo o gênero *Curtia* Cham. & Schldl., que tem distribuição bastante ampla, mas com maior diversidade no Brasil (Crespo & Marcondes-Ferreira 2009).

Segundo Struwe *et al.* (2002), os gêneros de Exaceae apresentam distribuição paleotropical, ocorrendo também em regiões temperadas da África. A tribo compreende seis gêneros e cerca de 144-184 espécies, sendo a maior parte pertencente aos gêneros *Sebaea* Sol. ex R.Br. e *Exacum* (60-100 e 65 espécies, respectivamente). Exaceae não possui gêneros de ocorrência natural no Brasil.

Chironieae é formada por cerca de 23 gêneros e 160 espécies. Na análise molecular de Struwe *et al.* (2002), essa tribo apresentou-se subdividida em 3 clados que receberam o *status* de subtribos: Canscorinae, Chironiinae e Coutoubeinae. Canscorinae tem distribuição paleotropical. Chironiinae é encontrada em regiões temperadas e contém *Zygostigma australe* (Cham. & Schldl.) Griseb., que ocorre no Brasil, Argentina e Uruguai. Coutoubeinae tem distribuição neotropical e inclui os gêneros *Coutoubea* Aubl. (cinco espécies; Guimarães & Klein 1985), *Deianira* Cham. & Schldl. (sete espécies; Guimarães 1977), *Schultesia* Mart. (18 espécies; Guimarães 2004) e *Symphyllrophyton* Gilg (com uma só espécie, endêmica do Sudeste do Brasil), todos com ocorrências no Brasil. Também fazem parte da tribo Chironieae os gêneros *Eustoma*, com espécies cultivadas para ornamentação, e *Centaurium*, com espécies introduzidas na América do Sul (Melderis 1972).

De acordo com Struwe *et al.* (2002), Gentianeae é uma tribo formada por mais de 900 espécies agrupadas em 17 gêneros (três monoespecíficos). A maioria das espécies dessa tribo ocorre em habitats alpinos e temperados do Hemisfério Norte, sendo que apenas 3 gêneros têm distribuição mais ampla, atingindo regiões temperadas do Hemisfério Sul (*Gentiana*, *Gentianella* Moench e *Halenia* Borkh.). Gentianeae não possui gêneros de ocorrência natural no Brasil.

Potalieae contém 13 gêneros (seis monoespecíficos) e cerca de 154 espécies, distribuídas ao redor do Equador (Struwe *et al.* 2002). Apenas dois gêneros ocorrem no Brasil: *Neurotheca* Salisb. ex Benth. & Hook.f. (três espécies; Struwe *et al.* 2002) e *Potalia* (nove espécies; Struwe & Albert 2004). Fazem parte ainda dessa tribo os gêneros *Enicostema* Bl. (Struwe *et al.* 2002) e *Lisianthus* P. Browne (Weaver 1972), os quais também ocorrem nos neotrópicos.

Helieae, a tribo tratada nesta Tese de Doutorado, é abordada mais detalhadamente na seqüência.

3. Helieae: caracterização morfológica e histórico nomenclatural

Helieae é formada por cerca de 23 gêneros e mais de 200 espécies (Struwe *et al.* 2002). É uma tribo exclusivamente neotropical, sendo que a maioria de suas espécies apresenta distribuição restrita, por exemplo, a áreas de campos rupestres e campos de altitude do Sudeste do Brasil (*Calolisanthus* Gilg, *Helia* Mart., *Prepusa* e *Senaea*), a vales e cordilheiras andinos (*Lagenanthus*) e a savanas arenosas do escudo das Guianas (*Aripuana* Struwe, Maas & V.A. Albert, *Celiantha* Maguire, *Chorisepalum* Gleason & Wodehouse, *Neblinantha* Maguire) (Struwe *et al.* 2002). Dentre as espécies de distribuição restrita, várias são consideradas raras (alguns exemplos são apresentados em Calió & Guimarães 2009). Poucas são as espécies com distribuição mais ampla, como *Chelonanthus alatus* (Aubl.) Pulle e *Tetrapollinia caeruleascens* (Aubl.) Maguire & B.M. Boom. A quantidade de espécies por gênero varia de modo bastante peculiar, sendo que aproximadamente 63,5% do total de espécies está concentrada nos gêneros *Macroparpea* e *Symbolanthus*, com mais de 100 e cerca de 30 espécies, respectivamente, enquanto que 15 gêneros (cerca de 65,2% do total de gêneros) possuem apenas de uma a três espécies cada (cálculos baseados nas estimativas de números de espécies apresentados em Calió 2009).

Quanto à morfologia, as plantas dessa tribo exibem grande variação em caracteres reprodutivos e vegetativos, mas podem ser caracterizadas, de modo geral, pelo cálice com estruturas glandulares na região dorsal ou áreas glandulares nos lobos; filetes desiguais em seu comprimento; anteras com apêndices apicais estéreis e recurvadas depois da antese;

estilete achatado, enrolando-se quando seco; e estigma bilamelado (Struwe *et al.* 2002). Vale ressaltar ainda que as flores são em geral entomófilas (*Irlbachia* Mart.), ou polinizadas por morcegos e beija-flores (*Chelonanthus*, *Macrocarpaea* e *Symbolanthus*) e possivelmente por mariposas em *Aripuana* (Struwe *et al.* 1997, 2002).

Na circunscrição atualmente aceita, Helieae é monofilética, mas a delimitação dos gêneros e espécies e suas relações são pouco conhecidas (Struwe *et al.* 2002). Além disso, muitos nomes de espécies estão incorretamente aplicados e o *status* de uma série de outros nomes não é conhecido (Struwe *et al.* 2002). Isso se deve, em parte, ao fato de que as delimitações no nível genérico e específico têm sido tradicionalmente difíceis de se estabelecer em Helieae, um grupo de taxonomia complicada e controversa (Weaver 1972, Struwe & Albert 1998a).

Em 1756, Patrick Browne descreveu o gênero *Lisianthus* com duas espécies da Jamaica. Em 1763, Adanson, em seu tratamento, citou Browne como autor do nome, mas mudou a grafia para *Lysianthus*. Em 1767, Linnaeus mencionou Browne como autor do gênero, mas alterou novamente a grafia para *Lisianthus*; além disso, em 1774, atribuiu binômios às espécies de Browne (*Lisianthus longifolius* e *Lisianthus cordifolius*).

Em 1775, Aublet, no seu tratamento sobre plantas da Guiana Francesa, apresentou o gênero *Lisyanthus* com quatro espécies: *L. purpurascens*, *L. alatus*, *L. grandiflorus* e *L. caerulescens*. Aublet apresentou detalhada descrição morfológica para o gênero, grafando o nome diferentemente das maneiras previamente apresentadas e sem referir Browne como autor do nome.

Em 1827, Martius descreveu uma série de novas espécies em *Lisianthus* e dois novos gêneros: *Irlbachia*, contendo uma espécie, e *Helia*, com duas espécies. É interessante ressaltar que, embora tivesse utilizado a grafia de Linnaeus em *Lisianthus*, Martius atribuiu a autoria do nome a Browne, Aublet e Ruiz & Pavon, os quais também haviam descrito espécies nesse gênero.

Em 1839, Grisebach transferiu as espécies de Browne para um novo gênero por ele criado, *Leianthus* (uma mudança claramente ilegítima segundo o *International Code of Botanical Nomenclature*, ICBN 2006), utilizando o nome *Lisyanthus* Aubl. para as outras espécies descritas até aquele momento. Grisebach (1839) apresentou o gênero *Lisyanthus* subdividido em 5 seções: *Macrocarpaea*, *Choriophyllum*, *Chelonanthus*, *Helia* e *Calolisyanthus* (*Irlbachia* Mart. foi reconhecido como um gênero à parte). Em 1845, Grisebach não fez alterações quanto ao posicionamento dos gêneros tratados nas seções (apenas incluiu espécies), entretanto, alterou a grafia do gênero para *Lisianthus*, mantendo Aublet como autor, e alterou a grafia da seção *Calolisyanthus* para *Calolisianthus*.

Em 1891, Kuntze reconheceu que era preciso escolher outro nome para as plantas nomeadas por Aublet como *Lisyanthus*, pois: 1) essas espécies precisavam ser realocadas

para um novo gênero, pois não estavam relacionadas ao *Lisianthus* de Browne; 2) Aublet não havia descrito um novo gênero com o nome "*Lisyanthus*", mas apenas adicionado espécies a um gênero já existente; e 3) o nome *Lisyanthus* (com a grafia de Aublet) não poderia ser utilizado para nomear esse grupo de plantas, pois este seria um homônimo em relação ao nome *Lisianthus* de Browne. Com base nessa constatação de que, além de uma grande confusão quanto à ortografia e ao uso dos nomes, havia um grave problema quanto à delimitação e compreensão da identidade dos gêneros nesse grupo, Kuntze tentou solucionar essas questões da seguinte maneira: 1) transferiu todas as espécies que ele considerava como pertencentes ao "*Lisyanthus*" de Aublet para *Helia* Mart.; e 2) apresentou *Lisianthus* de Linnaeus e *Leianthus* de Grisebach como sinônimos de *Lisianthus* de Browne. Com exceção do nome *Lisianthus* e suas variantes, havia outros nomes genéricos disponíveis para esse grupo de plantas; os dois mais antigos eram *Helia* e *Irlbachia*, ambos descritos por Martius em 1827, na mesma obra. Kuntze escolheu o nome *Helia* por este gênero possuir maior número de espécies.

Apesar do cuidadoso tratamento de Kuntze (1891), as circunscrições por ele propostas não chegaram a ser adotadas. É importante ressaltar ainda que Struwe & Albert (1998a, 1999) e Zijlstra *et al.* (1999) apresentaram discussões acerca da possibilidade de Aublet ter intencionalmente descrito um novo gênero sob a grafia *Lisyanthus*. As evidências apresentadas por Zijlstra *et al.* (1999) parecem mais consistentes e, por isso, *Lisyanthus* (grafia de Aublet) será aqui considerado como uma variante ortográfica de *Lisianthus* P. Browne.

Em 1895, Gilg atribuiu *status* genérico às seções de Grisebach, restabelecendo *Helia* como gênero, bem como criando os gêneros *Calolisianthus* (com essa grafia), *Chelonanthus* e *Macrocarpaea*. Além disso, Gilg (1895), baseando sua classificação em caracteres polínicos, reconheceu tribos e subtribos criadas por outros autores e criou tribos novas, como Helieae, na qual posicionou os gêneros portadores de tétrades polínicas (e.g. *Calolisianthus*, *Helia*, *Prepusa* e *Senaea*).

Estudos polínicos realizados por Nilsson (1968, 1970) deram sustentação às estreitas circunscrições genéricas propostas por Gilg (1895), além de sugerirem uma série de mudanças taxonômicas no sentido de reduzir ainda mais a circunscrição de determinados gêneros. Tais mudanças foram realizadas por Maguire (1981) e Maguire & Boom (1989), que descreveram alguns novos gêneros, como *Rogersonanthus* Maguire & B.M. Boom e *Tetrapollinia*.

Weaver (1972) publicou uma revisão taxonômica de *Lisianthus* P. Browne. O autor constatou que uma série de atributos morfológicos distinguia *Lisianthus* dos demais gêneros do denominado "complexo Lisianthoide", com os quais *Lisianthus* havia sido confundido conceitual ou ortograficamente até então. Além das diferenças morfológicas, o gênero

distribuí-se exclusivamente no Caribe e América Central, região onde ocorrem poucas espécies do "complexo Lisianthoide". Esse trabalho contribuiu, portanto, para o esclarecimento acerca da identidade de *Lisianthus*, encerrando a discussão sobre o relacionamento entre esse e os demais gêneros desse complexo.

Na década de 1980, Maas e seus colaboradores desenvolveram uma série de estudos taxonômicos com as espécies desse "complexo Lisianthoide", excluindo *Lisianthus* (Cobb & Maas 1983; Maas *et al.* 1983). Com base nos resultados desses trabalhos, Maas (1985) combinou os gêneros *Adenolisanthus* Gilg, *Brachycodon* Progel, *Calolisanthus*, *Chelonanthus*, *Helia* e *Pagaea* Griseb. em *Irlbachia*.

Análises filogenéticas realizadas a partir da década de 90 (vide Struwe & Albert 1998a para uma visão geral sobre o assunto) indicaram que, para que *Irlbachia sensu* Maas pudesse ser considerado um gênero monofilético, seria necessária a inclusão dos gêneros *Macrocarpaea*, *Symbolanthus* e *Tachia*. Além disso, se uma circunscrição mais ampla fosse aceita para esse grupo de plantas, o nome correto a ser utilizado, segundo o ICBN (2006, Art 11.5), seria *Helia*, devido ao fato de Kuntze (1891) ter dado prioridade ao nome *Helia* na sinonimização por ele proposta. Com base nisso, a sinonimização de *Helia* sob *Irlbachia* feita por Maas (1985) é ilegítima. Esse equívoco de Maas não foi percebido logo, e o nome *Irlbachia* foi amplamente empregado em trabalhos florísticos (Cordeiro 1987, 2003, 2005; Costa 1999; Harvey 1995; Pringle 1995) e na identificação de materiais de herbário (Struwe & Albert 1998a).

Uma das maneiras de impedir a continuidade do uso incorreto do nome *Irlbachia* é optando por circunscrever estreitamente os gêneros, ao invés de adotar um nome genérico para designar todo esse grupo de plantas. Além disso, a aceitação de gêneros mais estreitos facilita a categorização de toda a diversidade dessas plantas. Com base nisso, a presente Tese não emprega o nome *Irlbachia sensu* Maas, seguindo Struwe *et al.* (2002) na apresentação de gêneros mais estreitamente circunscritos.

4. Motivações para estudo do grupo e estabelecimento do projeto de pesquisa

Apesar de Struwe *et al.* (2002) terem contribuído para a delimitação das tribos de Gentianaceae, as hipóteses de relações filogenéticas dentro de Helieae não se sustentaram apenas com os dados de *trnL* intron e *matK*. O uso de seqüências da região do ITS do DNA nuclear ribossomal havia sido bastante elucidativo no estudo das relações filogenéticas em outras tribos (Chassot *et al.* 2001; Struwe *et al.* 1998; Thiv *et al.* 1999, 2000; Yuan *et al.* 1996), e seqüências de 5S-NTS, também do DNA nuclear ribossomal, pareciam ser informativas o suficiente para auxiliar na compreensão das relações em Helieae (Struwe &

Gould 2004). Além disso, acreditava-se que a grande diversidade morfológica do grupo poderia prover muitos caracteres para a realização de análises filogenéticas.

Embora o esforço para conhecimento e compreensão das gencianáceas tenha aumentado, Helieae é relativamente pouco conhecida se comparada às demais tribos da família (Struwe *et al.* 2002). Revisões taxonômicas preliminares de Helieae resultaram na descoberta de novos gêneros (*e.g.* Maguire 1985) e no reconhecimento de uma série de espécies (*e.g.* Struwe & Albert 1998b). Isso indica que a tribo foi ainda pouco estudada e provavelmente contém uma diversidade bem maior do que a conhecida entre os gêneros, muitos dos quais nunca foram revisados.

Em julho de 2003, iniciou-se um grande projeto de pesquisa sobre filogenia e biogeografia de Helieae (“Phylogeny and biogeography of the neotropical tribe Helieae – Gentianaceae”), financiado pela *National Science Foundation* (NSF, processo 0317612). O projeto visava analisar a diversidade de Helieae, um grupo de plantas neotropicais taxonomicamente complexo, por meio da integração de trabalhos de revisão taxonômica dos gêneros, bem como providenciar hipóteses filogenéticas e biogeográficas bem sustentadas para o grupo. Tal projeto foi proposto pela Dra. Lena Struwe (Rutgers, the State University of New Jersey, E.U.A.).

Entre os gêneros de Helieae que não haviam sido alvo de revisões, havia quatro de distribuição praticamente endêmica ao Brasil: *Calolisianthus*, *Helia*, *Prepusa* e *Senaea*. Com a necessidade de um pesquisador disposto a concentrar esforços no estudo desses gêneros endêmicos e tão pouco conhecidos, fui convidada a desenvolver um projeto de Doutorado sob orientação do Dr. Pirani.

Além da possibilidade de integrar laboratórios nacional e estrangeiro, fazer parte desse grande projeto de pesquisa contribuiria diretamente com uma das linhas de pesquisa já desenvolvida no Laboratório de Sistemática Vegetal do Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo: o estudo da vegetação de áreas de alta altitude no Brasil. Outros fatores que motivaram o estudo desses gêneros foram: a) a possibilidade de conhecer a morfologia de um novo grupo de plantas (pois meus estudos durante a Iniciação Científica haviam se concentrado em outra família da ordem Gentianales, Rubiaceae); b) a possibilidade de trabalhar com técnicas laboratoriais e métodos de análises que desconhecia; c) a interessante distribuição geográfica do grupo, restrita a áreas de alta altitude brasileiras, com curiosos exemplos de disjunções e endemismos; e d) a necessidade de um mapeamento detalhado da ocorrência das espécies, uma vez que algumas delas pareciam ser raras (a julgar pelo pequeno número de espécimes em acervos de herbários), fato que poderia ser indicativo de que as mesmas encontravam-se ameaçadas.

5. Objetivos

Nesse contexto, esta Tese de Doutorado tem os seguintes objetivos:

- obter filogenias de Helieae baseadas em dados morfológicos e moleculares, para avaliar as circunscrições genéricas e elucidar as relações de parentesco entre os gêneros;
- estudar a morfologia e taxonomia das espécies de *Calolisianthus*, *Helia*, *Prepusa* e *Senaea*, gêneros ou endêmicos ou centrados no Brasil;
- documentar e estudar a distribuição geográfica das espécies;
- estudar as relações filogenéticas entre as espécies de cada gênero.

6. Organização da tese

Além desta “Introdução Geral” e das “Considerações Finais”, a Tese está organizada em 7 capítulos. Os capítulos 1 e 2 são resumos de artigos já publicados, que, por estarem redigidos em inglês, somente puderam ser incluídos como anexos. Os capítulos 3, 4 e 5 estão estruturados como artigos científicos, cada um estando de acordo com a formatação exigida pelos respectivos periódicos aos quais serão submetidos. Obras de referência, como Brummit & Powell (1992) ou Stafleu & Cowan (1976-1988), foram seguidas na elaboração desta Tese, mas não são citadas nas referências bibliográficas de cada capítulo devido às normas de cada periódico científico. Os capítulos 6 e 7 apresentam resultados que, para serem publicados, dependerão da junção com resultados obtidos por outra pesquisadora, Dra. Katherine B. Lepis (Rutgers University, NJ, EUA), que estudou o gênero *Chelonanthus*. Tal gênero mostrou-se parafilético nas análises filogenéticas: algumas espécies emergem juntamente com *Helia* e serão combinadas nesse gênero, e a espécie-tipo, *Ch. purpurascens*, emerge juntamente com duas espécies de *Calolisianthus*. Serão elaborados dois artigos, um de revisão de *Chelonanthus* (incluindo os dados do capítulo 6) e um de revisão de *Helia* (incluindo os dados apresentados no capítulo 7), ambos em colaboração com Katherine B. Lepis, Lena Struwe e José Rubens Pirani. Seguindo a formatação exigida pelos periódicos científicos, as respectivas tabelas, figuras e apêndices são apresentados ao final de cada capítulo desta Tese. Com relação às figuras, as ilustrações a nanquim referentes ao primeiro capítulo foram elaboradas por Bobbi Angel, e as demais por Klei Souza. Além disso, é importante ressaltar que as espécies, as combinações e os nomes novos apresentados nos capítulos 4, 5, 6 e 7 não estão sendo efetivamente publicados na presente Tese.

O capítulo 1 é um resumo expandido do artigo "*Morphology-based phylogeny and revision of Prepusa and Senaea (Gentianaceae: Helieae) – rare endemics from eastern*

Brazil", publicado em 2008 no periódico internacional *Kew Bulletin* (Calió *et al.* 2008); o artigo, em sua versão original em inglês, compõe o Anexo 1. Esse trabalho apresenta filogenia baseada em caracteres morfológicos, detalhadas descrições morfológicas, chaves de identificação e ilustrações das espécies, além de discussões sobre a distribuição geográfica e sobre o estado de conservação dessas plantas.

O capítulo 2 é um resumo expandido do artigo "*Evolutionary patterns in Neotropical Helieae (Gentianaceae): evidence from morphology, chloroplast and nuclear DNA sequences*"; publicado em 2009 no periódico internacional *Taxon* (Struwe *et al.* 2009); o artigo, em sua versão original em inglês, compõe o Anexo 2. Esse trabalho apresenta análises filogenéticas realizadas no nível da tribo com base em dados morfológicos e moleculares (*trnL intron* e *matK* de cloroplasto, e ITS nuclear ribossomal), aponta problemas quanto à circunscrição de alguns gêneros, discute o uso de alguns atributos morfológicos tradicionalmente utilizados na classificação da tribo e, por fim, analisa a evolução de alguns caracteres morfológicos.

O capítulo 3 apresenta filogenias de Helieae resultantes da análise de dados morfológicos e moleculares (ITS e 5S-NTS, ambos nucleares ribossomais), enfatizando a circunscrição genérica de *Calolisianthus*, *Chelonanthus* e *Helia*. Esse capítulo comporá um manuscrito a ser submetido ao periódico internacional *Molecular Phylogenetics and Evolution* e, por essa razão, já se apresenta formatado segundo as normas dessa revista científica. Esse artigo será publicado em colaboração com José Rubens Pirani, Katherine B. Lepis e Lena Struwe.

O capítulo 4 apresenta a proposta de uma nova lectotipificação para o gênero *Calolisianthus* e será submetido ao periódico internacional *Taxon*, apresentando formatação segundo as normas dessa revista científica. Esse artigo será publicado em conjunto com José Rubens Pirani.

O capítulo 5 apresenta o estudo taxonômico de *Calolisianthus*, com detalhadas descrições morfológicas, chaves de identificação, ilustrações das espécies e mapas de distribuição geográfica. Assim como o capítulo 4, será submetido à *Taxon* e terá José Rubens Pirani como co-autor.

O capítulo 6 apresenta descrições morfológicas, ilustrações e mapas de distribuição de duas espécies anteriormente pertencentes a *Calolisianthus*, mas que serão combinadas em *Chelonanthus*.

O capítulo 7 apresenta uma nova lectotipificação do gênero *Helia*, bem como as descrições morfológicas, ilustrações e mapas de distribuição geográfica das espécies de *Helia sensu stricto*.

Referências Bibliográficas

- Adanson, M. 1763. *Familles de plantes*, vol. 2. Vincent, Paris.
- Albert, V.A. & Struwe, L. 2002. Gentianaceae in context. *In*: Struwe, L. Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae – Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 1-20.
- Aublet, M.F. 1775. *Histoire des plantes de la Guiane Française*. Vol.1. P.-F. Didot, London Paris.
- APG. 1998. An ordinal classification for the families of flowering plants. *Ann Missouri Bot. Gard.* 85: 531-553.
- APG II. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Bot. J. Linn. Soc.* 141: 399-436.
- Backlund, M., Oxelman, B. & Bremer, B. 2000. Phylogenetic relationships with the Gentianales based on *ndhF* and *rbcl* sequences, with particular reference to the Loganiaceae. *Amer. J. Bot.* 87: 1029-1043.
- Bentham, G. 1876. Gentianaceae. *In*: Bentham, G. & Hooker, J. (eds.), *Genera plantarum*, vol. 2. parte 2. L. Reeve & Co., Williams & Norgate, London, pp. 799-820.
- Bremer, B. & Struwe, L. 1992. Phylogeny of the Rubiaceae and the Loganiaceae: congruence or conflict between morphological and molecular data. *Am. J. Bot.* 79(10): 1171-1184.
- Browne, P. 1756. *The civil and natural history of Jamaica in three parts*, ed. 1. T. Osborne & J. Shipton, London.
- Brummitt, R.K. & Powell, C.E. 1992. *Authors of plant names*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Calió, M.F. 2009. Gentianaceae. *In*: Neotropikey. Version 1, March 2009. Royal Botanic Gardens, Kew. <http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Gentianaceae.htm>, acessado em 5/agosto/2009.
- Calió, M.F. & Guimarães, E.F. 2009. Gentianaceae. *In*: Giulietti, A.M., Rapini, A., Andrade, M.J.G., de Queiroz, L.P. & Cardoso Silva, J.M. (org.), *Plantas raras do Brasil*. Belo Horizonte - MG: Conservação Internacional, Universidade Estadual de Feira de Santana, pp. 185-186.
- Calió, M.F., Pirani, J.R. & Struwe, L. 2008. Morphology-based phylogeny and revision of *Prepusa* and *Senea* (Gentianaceae: Helieae) – rare endemics from eastern Brazil. *Kew Bull.* 63: 169-191.
- Chassot, P., Nenomissa, S., Yuan, Y.-M. & Küpfer, P. 2001. High paraphyly of *Swertia* L. (Gentianaceae) in the *Gentianella*-lineage as revealed by nuclear and chloroplast DNA sequence variation. *Plant Syst. Evol.* 229: 1-21.
- Cobb, L. & Maas, P.J.M. 1983. Seed coat morphology in *Irlbachia* (Gentianaceae). *Proc.*

- Kon. Ned. Akad. Wetensch.*, ser C., 86: 127-136.
- Cordeiro, I. 1987. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Gentianaceae. *Bol. Bot. Univ. de São Paulo* 9: 227-242.
- Cordeiro, I. 2003. Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Gentianaceae. *Bol. Bot. Univ. de São Paulo* 22 (2): 137-140.
- Cordeiro, I. 2005. Gentianaceae. In: Wanderley, M.G.L., Shepherd, G.J., Melhem, T.S., Giulietti, A.M. (eds.), *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*, Vol. 4. São Paulo, pp. 211-222.
- Costa, M.A.S. 1999. Gentianaceae. In: Ribeiro, J.E.L.S. et al. (eds.), *Flora da Reserva Ducke: guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central*. Manaus, INPA, pp. 566-567.
- Crespo, S.R. de M. & Marcondes-Ferreira, W. 2009. Revisão taxonômica do gênero *Curtia* (Gentianaceae). *Rodriguésia* 60(2): 423-444.
- De Laet, J. & Smets, E. 1996. A commentary on the circumscription and evolution of the order Gentianales, with special emphasis on the position of Rubiaceae. *Opera Bot. Belg.* 7: 11-18.
- Gardner, G. 1843. Descriptions of four new genera of plants from the Organ Mountains. *Lond. J. Bot.* 2: 9-15.
- Gentian Research Network. <http://gentian.rutgers.edu/>. Acessado em 5 agosto 2009.
- Gilg, E.F. 1895. Gentianaceae. In: A. Engler & K. Prantl (eds.), *Die Natürlichen Pflanzenfamilien*. Vol 4 (2). Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig, pp. 50-108.
- Grisebach, A.H.R. 1839 [1838]. *Genera et Species Gentianearum*. Stuttgart.
- Grisebach, A.H.R. 1845. Gentianaceae. In: De Candolle, A. (ed.), *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*. Fortin, Masson, et Sociorum, Paris, pp. 39-141.
- Guimarães, E.F. 1977. Revisão taxonômica do gênero *Deianira* Chamisso et Schlechtendal (Gentianaceae). *Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro* 21: 46-123.
- Guimarães, E.F. 2004. Novos sinônimos para as espécies de *Schultesia* Mart. e *Xestea* Griseb (Gentianaceae). *Rodriguésia* 55 (85): 67-72.
- Guimarães, E.F. & Klein, V.L.G. 1985. Revisão taxonômica do gênero *Coutoubea* Aublet (Gentianaceae). *Rodriguésia* 37: 21-45.
- Harvey, Y.B. 1995. Gentianaceae. In: Stannard, B.L. (ed.), *Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina–Bahia, Brazil*. Royal Botanic Gardens, Kew, pp. 321–327.
- Heywood, V.H. 1978. *Flowering plants of the world*. Oxford University Press. New York.
- ICBN, 2006. McNeill, J., Barrie, F.R., Burdet, H.M., Demoulin, V., Hawksworth, D.L., Marhold, K. Nicolson, D.H., Prado, J., Silva, P.C., Skog, J.E., Wiersema, J.H. & Turland, N.J. (eds.), *International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code) adopted by the International Botanical Congress Vienna, Austria, July 2005*, A.R.G. Gantner Verlag,

Ruggel Liechtenstein.

- Jensen, S.R. & Schripsema, J. 2002. Chemotaxonomy and pharmacology of Gentianaceae. In: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae: Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, pp. 573-631.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F. 2002. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 2ª edição.
- Jussieu, A.L. 1789. *Genera plantarum, secundum ordines naturales disposita, juxta methodum in Horto regio parisiensi exaratam*, anno M.DCC.LXXIV. Herissant, Paris.
- Kuntze, C.E.O. 1891. *Revisio generum plantarum*, vol. 2. Arthur Felix, Leipzig.
- Leewenberg, A.J.M. & Leenhouts, P.W. 1980. Taxonomy. In: Leewenberg, A.J.M. (ed.), *Engler and Prantl's Die natürlichen Pflanzenfamilien, Angiospermae: Ordnung Gentianales, Fam. Loganiaceae*. Vol. 28b (1). Duncker and Humblot, Berlin, pp. 8-96.
- Linnaeus, C. 1767. *Mantissa plantarum*. Impensis Direct. Laurentii Salvii, Stockholm.
- Linnaeus, C. 1774. *Systema vegetabilium, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus et differentiis*. J.C. Dieterich, Gottingae et Gothae. 13º ed.
- Maas, P.J.M. 1985. Nomenclatural notes on neotropical Lisyantheae (Gentianaceae). *Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch.*, Ser. C. 88: 405-412.
- Maas, P.J.M., Nilsson, S., Hollants, A.M.C., Welle, B.J.H., Persoon, H. & Heusden, E.C.H. 1983. Systematic studies in neotropical Gentianaceae - the *Lisianthus* complex. *Acta bot. Neerl.* 32: 371-374.
- Maguire, B. 1981. Gentianaceae. In: Maguire, B. et al. (eds.), The Botany of the Guayana Highland Part XIII. *Mem. New York Bot. Gard.* 51: 2-56.
- Maguire, B. 1985. Gentianaceae – part 2. *Phytologia* 57: 311-312.
- Maguire, B. & Boom, B.M. 1989. Gentianaceae (part 3). In: Maguire, B. et al. (eds.), The Botany of the Guayana Highland Part XI. *Mem. New York Bot. Gard.* 32: 330-388.
- Maguire, B. & Pires, J.M. 1978. Saccifoliaceae – a new monotypic family of the Gentianales. In: Maguire B. et al. (eds.), The Botany of the Guayana Highland – Part X. *Mem. New York Bot. Gard.* 29: 230-245.
- Martius, C.F.P., von. 1827. *Nova genera et species plantarum quas in itinere per Brasiliam*, vol. 2. V. Wolf, München.
- Melderis, A. 1972. Taxonomic studies on the european species of the genus *Centaurium* Hill. *Bot. J. Linn. Soc.* 65(2): 224-250.
- Mészáros, S., Laet, J. De, Goethals, V., Smets, E. & Nilsson, S. 2002. Cladistics of Gentianaceae: a morphological approach. In: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae: Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 310-376.

- Nilsson, S. 1968. Pollen morphology in the genus *Macrocarpaea* (Gentianaceae) and its taxonomical significance. *Svensk Bot. Tidskr.* 62: 338-364.
- Nilsson, S. 1970. Pollen morphological contributions to the taxonomy of *Lisianthus* L. *s.lat.* (Gentianaceae). *Svensk Bot. Tidskr.* 64: 1-43.
- Nilsson, S. 2002. A review of palinology. In: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae: Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 377-572.
- NSF (National Science Foundation).
<http://www.nsf.gov/awardsearch/showAward.do?AwardNumber=0317612>
- Pringle, J.S. 1995. Family 159A. Gentianaceae. In: Harling, G. & Andersson, L. (eds.), *Flora of Ecuador*, vol. 53. Department of Systematic Botany, Gothenburg University, Göteborg, pp. 1-131.
- Simpson, M.G. 2006. *Plant systematics*. Elsevier Academic Press. Amsterdam, Boston.
- Stafleu, F.A. & Cowan, R.S. 1976-1988. *Taxonomic Literature: A selective guide to botanical publications and collections, with dates, commentaries and types*. 2nd much enlarged ed. v. 1-7, suppl. 1-6.
- Stevens, P.F. 2008 onwards. *Angiosperm Phylogeny Website*. Version 9, June 2008. [and more or less continuously updated since]. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acessado em 4 agosto 2009.
- Struwe, L. & Albert, V.A. 1998a. *Lisianthus* P.Br., its probable homonym *Lisyanthus* Aubl. (Gentianaceae) and the priority of *Helia* Mart. over *Irlbachia* Mart. as its substitute. *Harvard Pap. Bot.* 3: 67-71.
- Struwe, L. & Albert, V.A. 1998b. Six new species of Gentianaceae from the Guayana Shield. *Harvard Pap. Bot.* 3: 181-197.
- Struwe, L. & Albert, V.A. 1999. Nomenclatural issues in Helieae-Gentianaceae: a response to Zijlstra *et al.* *Harvard Pap. Bot.* 4 (1): 293.
- Struwe, L. & Albert, V.A. 2004. A monograph of Neotropical *Potalia* Aublet (Gentianaceae: Potalieae). *Syst. Bot.* 29 (3): 670-701.
- Struwe, L., Albert, V.A. & Bremer, B. 1994. Cladistics of the family level classification of the Gentianales. *Cladistics* 10: 175-206.
- Struwe, L., Albert, V.A., Calió, M.F., Frasier, C., Lepis, K.B., Mathews, K.G., Grant, J.R., 2009. Evolutionary patterns in Neotropical Helieae (Gentianaceae): evidence from morphology, chloroplast and nuclear DNA sequences. *Taxon* 58(2): 479-499.
- Struwe, L. & Gould, K.R. 2004. Redefinition of *Symbolanthus* to include *Wurdackanthus* (Gentianaceae-Helieae). *Novon* 14: 354-359.
- Struwe, L., Kadereit, J., Klackenberg, J., Nilsson, S., Thiv, M., von Hagen, K.B. & Albert, V.A. 2002. Systematics, character evolution and biogeography of Gentianaceae, including a

- new tribal and subtribal classification. *In*: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae – Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 21-309.
- Struwe, L., Maas, P.J.M. & Albert, V.A. 1997. *Aripuana cullmaniorum*, a new genus and species of Gentianaceae from white-sands of southeastern Amazonas, Brazil. *Harvard Pap. Bot.* 2: 235-253.
- Struwe, L., Maas, J.P., Pihlar, O. & Albert, V.A. 1999. Gentianaceae. *In*: Berry, P.E., Yatskievych, K. & Holst, B.K. (eds.) *Flora of the Venezuelan Guayana*. Vol. 5 Missouri Botanical Garden, St. Louis, pp. 474-542.
- Struwe, L., Thiv, M., Kadereit, J.W., Pepper, A.S.-R., Motley, T.J., White, P.J., Rova, J.H.E., Potgieter, K. & Albert, V.A. 1998. *Saccifolium* (Saccifoliaceae), an endemic of Sierra de la Neblina on the Brazilian-Venezuelan frontier, is related to a temperate-alpine lineage of Gentianaceae. *Harvard Pap. Bot.* 3: 199-214.
- Thiv, M., Struwe, L., Albert, V.A. & Kadereit, J.W. 1999. The phylogenetic relationships of *Saccifolium bandeirae* Maguire & Pires (Gentianaceae) reconsidered. *Harvard Pap. Bot.* 4: 519-526.
- Thiv, M., Struwe, L. & Kadereit, J.W. 2000. The phylogenetic relationships and evolution of the Canarian laurel forest endemic *Ixanthus viscosus* (Aiton) Griseb. (Gentianaceae): evidence from matK and ITS sequences, and floral morphology and anatomy. *Plant Syst. Evol.* 218: 299-317.
- Wagenitz, G. 1964. Gentianales. *In*: Melchior, H.A. *Engler's Syllabus der Pflanzenfamilien*, vol. 2, ed. 12. Gebr. Börntraeger, Berlin, pp. 405-424.
- Weaver, R.E. 1972. A revision of the neotropical genus *Lisianthus* (Gentianaceae). *J. Arnold Arb.* 53: 76-100, 234-272, 273-311.
- Yuan, Y.-M., Küpfer, P. & Doyle, J.J. 1996. Infrageneric phylogeny of the genus *Gentiana* (Gentianaceae) inferred from nucleotide sequences of the internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA. *Amer. J. Bot.* 83(5): 641-652.
- Zijlstra, G., Maas, P.J.M., Gandhi, K. 1999. On the nonexistence of *Lisyanthus* Aublet. *Harvard Pap. Bot.* 4(1): 289-292.

— CAPÍTULO 1 —



PREPUSA HOOKERIANA

EXTRAÍDO DE CURTIS'S BOTANICAL MAGAZINE

FILOGENIA BASEADA EM MORFOLOGIA E REVISÃO DE
PREPUSA E *SENAEA* (GENTIANACEAE: HELIEAE) —
PLANTAS RARAS E ENDÊMICAS DO LESTE DO BRASIL

CAPÍTULO 1

Filogenia baseada em morfologia e revisão de *Prepusa* e *Senaea* (Gentianaceae: Helieae) – plantas raras e endêmicas do leste do Brasil¹

Os gêneros *Prepusa* Mart. e *Senaea* Taub. (Gentianaceae) compreendem ervas, arbustos ou pequenas árvores restritas a habitats montanhosos dos estados da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. Devido ao compartilhamento de alguns atributos morfológicos, ambos os gêneros foram tentativamente posicionados em Helieae, embora esta hipótese carecesse de embasamento filogenético. Além das descrições originais, até recentemente esses gêneros haviam sido tratados apenas em trabalhos de cunho florístico. Entretanto, a publicação de um artigo de filogenia e revisão de ambos os gêneros (Calió *et al.* 2008, Anexo 1) disponibilizou novas e atualizadas informações acerca dos mesmos. A seguir, o conteúdo do artigo, que é parte integrante desta Tese, é apresentado de forma resumida.

Com base principalmente em exemplares de coleções de herbários, a morfologia externa das espécies de *Prepusa* e *Senaea* foi investigada com o objetivo de levantar caracteres para análise filogenética, bem como para elaboração de descrições morfológicas detalhadas. Os dados obtidos foram analisados sob óptica dos princípios bayesianos (buscas com modelo "standard" realizadas no MrBayes) e da parcimônia (buscas de *branch and bound* realizadas no PAUP*), com avaliação da sustentação das relações por meio das probabilidades posteriores, *bootstrap* e índice de decaimento.

Os resultados das análises filogenéticas apresentaram um quadro consistente das relações de *Prepusa* e *Senaea*. Os gêneros são monofiléticos e irmãos entre si, essa relação sendo sustentada pelas flores 6-meras, cálice membranáceo e estiletos cilíndricos. No clado das espécies de *Prepusa*, *P. montana* Mart. é a primeira a ramificar, seguida de *P. viridiflora* Brade; *P. alata* Porto & Brade é irmã do par *P. connata* Gardner e *P. hookeriana* Gardner. As duas espécies de *Senaea* são irmãos entre si. A filogenia representando essas relações de parentesco e as discussões acerca da evolução do grupo encontram-se no Anexo 1.

Morfologicamente, *Prepusa* e *Senaea* diferem-se principalmente pelo tamanho relativo do cálice: em *Prepusa*, esta estrutura é grande, de tamanho maior ou equivalente à

¹ Artigo publicado no *Kew Bulletin*; versão original em inglês no Anexo 1.

metade do comprimento da corola; *Senaea* apresenta cálice pequeno, muito mais curto que a corola. Além disso, *Senaea* apresenta corola lilás a azulada (Fig. 1A) com lobos da corola quase tão longos quanto o tubo, enquanto *Prepusa* apresenta corola variando entre esverdeada a amarelada ou alva (Figs. 1C, 2C, 3C e 3E), com lobos da corola muito mais curtos que o tubo. As duas espécies de *Senaea* diferenciam-se entre si principalmente pela presença de papilas no pedicelo e cálice em *S. coerulea* Taub., e ausência das mesmas em *S. janeirensis* Brade. *Prepusa montana* é a única espécie do gênero que atinge o porte de arvoreta (Figs. 2A e 2B); diferencia-se das demais também pelo cálice e corola de cor amarelo-esverdeada a creme. *Prepusa viridiflora* distingue-se das demais pelo cálice alado de coloração verde-amarronzada, com lobos triangulares (Figs. 1B e 1C). *Prepusa alata*, *P. connata* e *P. hookeriana* possuem cálice de coloração avermelhada, rosada ou vinácea (Figs. 3A, 3B e 3D), sendo que apenas o cálice de *P. alata* é alado. *Prepusa connata* diferencia-se das demais pelas brácteas conatas em 2/5 a 4/5 de seu comprimento, enquanto *P. hookeriana* apresenta brácteas conatas em até, no máximo, 1/5 de seu comprimento. As descrições morfológicas detalhadas, chaves de identificação e ilustrações das espécies estão apresentadas no Anexo 1.

Quanto à distribuição geográfica, *Prepusa montana* ocorre em campos rupestres e cerrados da Chapada Diamantina, na Bahia. *Prepusa viridiflora* ocorre nos campos de altitude do Espírito Santo, nos municípios de Castelo e Domingos Martins. *Prepusa connata* e *P. hookeriana* ocorrem nos campos de altitude da Serra dos Órgãos, no Rio de Janeiro, sendo a distribuição de *P. hookeriana* um pouco mais ampla, por ocorrer também na região do Itatiaia. *Prepusa alata* ocorre apenas na região de Santa Maria Madalena (Pedra do Desengano), onde também ocorre *Senaea janeirensis*. E, por fim, *S. coerulea* foi coletada em localidades esparsas na Cadeia do Espinhaço, em Minas Gerais. Sugere-se que esse padrão de distribuição em mosaico deva ter se originado a partir de eventos de vicariância seguidos de especiação alopátrica. Os mapas representando a distribuição de cada espécie, bem como discussões sobre a biogeografia desses gêneros, constam no Anexo 1.

É importante ressaltar que todas essas espécies apresentam distribuição bastante restrita, muitas vezes ocorrendo apenas em um pico de montanhas. Populações de *Prepusa alata*, *P. connata*, *P. hookeriana*, *P. viridiflora* e *Senaea janeirensis* são conhecidas apenas de áreas de proteção ambiental. *Prepusa montana* ocorre em áreas de proteção e também fora dessas áreas, enquanto *S. coerulea* foi reportada apenas para áreas não-protegidas. As espécies de *Prepusa* e *Senaea* foram classificadas, de acordo com os critérios propostos pela "International Union for Conservation of Nature" (IUCN), como: (1) Vulnerável (VU, *P. montana*); (2) Em perigo (EN, *P. hookeriana* e *P. viridiflora*); e (3) Em perigo crítico (CR, *P. alata*, *P. connata*, *S. coerulea* e *S. janeirensis*). *S. coerulea* pode, inclusive, estar extinta, pois não é encontrada desde 1982, apesar das freqüentes coletas realizadas nas regiões

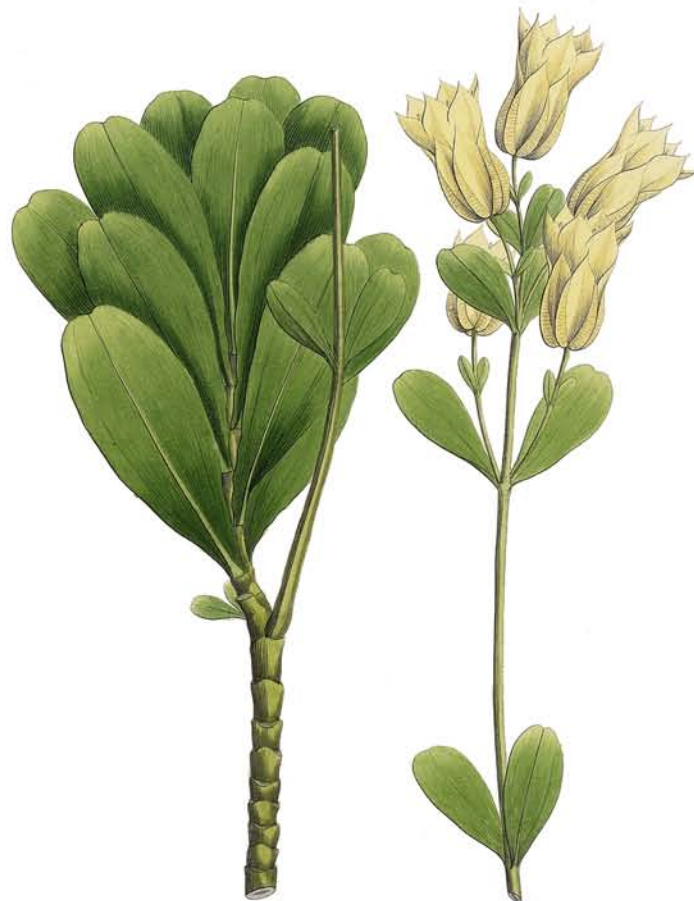
onde essa espécie fora reportada. Mais detalhes quanto à distribuição geográfica e categorização segundo os critérios da IUCN são apresentadas no Anexo 1.

Alguns meses após a publicação do artigo de Calió *et al.* (2008), Cláudio Nicoletti de Fraga, pesquisador do Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro e doutorando pela Universidade Federal de Minas Gerais, coletou espécimes de *Senaea* no Espírito Santo, nas mesmas localidades onde ocorre *P. viridiflora*. Ainda não foi possível estudar o material herborizado, mas a análise de fotografias sugere se tratar de *S. janeirensis*. Se essa identificação for confirmada, essa espécie não poderá mais ser classificada como "em perigo crítico", devendo ser categorizada como "em perigo" segundo os critérios da IUCN.

Referência bibliográfica

Calió, M.F., Pirani, J.R. & Struwe, L. 2008. Morphology-based phylogeny and revision of *Prepusa* and *Senaea* (Gentianaceae: Heliae) – rare endemics from eastern Brazil. *Kew Bull.* 63: 169-191. Anexo 1.

— CAPÍTULO 2 —



PREPUSA MONTANA

EXTRAÍDO DE NOVA GENERA ET SPECIES PLANTARUM

**PADRÕES EVOLUTIVOS EM HELIEAE (GENTIANACEAE):
EVIDÊNCIAS MORFOLÓGICAS E DE SEQÜÊNCIAS DE DNA
PLASTIDIAIS E NUCLEARES**

CAPÍTULO 2

Padrões evolutivos em Helieae (Gentianaceae): evidências morfológicas e de seqüências de DNA plastidiais e nucleares¹

Embora a reconstrução das relações filogenéticas de Gentianaceae tenha sido tema de pesquisas desde a década de 90, somente houve avanço substancial na área em 2002, com a publicação do trabalho de Struwe e colaboradores. Com o aumento da amostragem de táxons e a inclusão de maiores conjuntos de dados, Struwe *et al.* (2002) obtiveram filogenias com maior resolução, nas quais se basearam para elaborar uma nova classificação da família no nível de tribos. A base de dados utilizada, entretanto, não foi suficiente para resolver e sustentar as relações filogenéticas entre os grupos menos inclusivos. Fazia-se necessária, portanto, a exploração de novos conjuntos de dados que fossem mais informativos no nível genérico.

O estabelecimento de um grande projeto de cooperação internacional em 2003, com o objetivo de estudar as relações filogenéticas entre os gêneros de Helieae (vide Introdução desta Tese para histórico detalhado), resultou na obtenção de grande quantidade de dados moleculares e morfológicos. Os resultados da exploração inicial desses dados foram publicados recentemente no periódico internacional *Taxon* (Struwe *et al.* 2009, Anexo 2). Este último artigo, elaborado em colaboração com pesquisadores de outras instituições de pesquisa, faz parte da presente Tese de Doutorado e, portanto, é apresentado de forma resumida na seqüência, bem como integralmente no Anexo 2.

Struwe *et al.* (2009) amostraram 59 espécies representativas de praticamente todos os gêneros de Helieae. Foram incluídos 23 táxons de outras tribos de Gentianaceae para garantir enraizamento apropriado nas análises filogenéticas, pois as relações entre as tribos eram, em sua maioria, desconhecidas. Dados morfológicos foram obtidos principalmente a partir da análise de materiais de herbários e da compilação de dados provenientes de literatura, totalizando 127 caracteres. Aqueles relacionados ao hábito das plantas, merisma das flores e agregação de pólen foram mapeados nas filogenias obtidas para se investigar sua evolução em Helieae.

Seqüências de DNA plastidial, especificamente *matK* e *trnL* intron, provenientes de estudos anteriores, bem como seqüências novas da região ITS do DNA nuclear ribossomal,

¹ Artigo publicado na *Taxon*; versão original em inglês no Anexo 2.

compuseram as matrizes de dados moleculares. Também foram utilizadas matrizes binárias (ausência / presença) com dados de recodificação dos eventos de inserção-deleção (indels) de *trnL* intron e ITS. As matrizes foram combinadas de modos diferentes, incluindo ou não táxons com determinado conjunto de dados. A congruência entre as partições de dados foi avaliada por meio do teste ILD (*Incongruence Length Difference*). Análises de parcimônia foram realizadas com o programa NONA por meio do Winclada. A estratégia de busca envolveu uma primeira busca padrão, seguida de busca com método de *ratchet*. Os resultados foram compilados em árvores de consenso estrito, com medição de sustentação dos nós por meio de análises de *Jackknife*. Detalhes acerca da metodologia empregada apresentam-se descritos no Anexo 2.

Apesar do teste ILD ter indicado grande heterogeneidade entre os diferentes conjuntos de dados, a inspeção visual indicou congruência entre as topologias, o que justificou a análise combinada entre as diferentes partições. Detalhamentos sobre resultados da análise individual de cada partição de dados estão relatados no Anexo 2.

O consenso estrito da matriz combinada “pequena” (i.e., incluindo apenas táxons para os quais se possuía ao menos um conjunto de dados moleculares) foi o mais resolvido e com valores de *Jackknife* mais altos. Em resumo, Helieae foi recuperada como monofilética, tendo Gentianeae como tribo-irmã. *Prepusa montana* emergiu na base da tribo como grupo-irmão das demais espécies de Helieae, que apresentaram-se agrupadas em dois grandes clados: um deles formado por representantes dos gêneros *Chorisepalum*, *Macrocarpaea* e *Tachia* (“subclado *Macrocarpaea*”); o outro compreendendo representantes de *Adenolisianthus*, *Aripuana*, *Calolisianthus*, *Chelonanthus*, *Helia*, *Irlbachia*, *Lehmaniella*, *Neblinantha*, *Purdieanthus*, *Symbolanthus* e *Tetrapollinia* (“subclado *Symbolanthus*”). Além da quase completa resolução das relações internas de Helieae, diversos gêneros foram recobrados como monofiléticos, com exceção de *Chelonanthus* e *Irlbachia*, que emergiram como polifiléticos.

Embora tenha levado à redução dos valores de *Jackknife*, a adição de táxons para os quais se possuía apenas dados morfológicos (análise combinada “grande”) não alterou grande parte dos agrupamentos da análise combinada “pequena”. Essa congruência entre as análises reforçou a robustez das hipóteses propostas para a evolução de Helieae, bem como permitiu avaliar e discutir questões acerca da filogenia da tribo, com praticamente todos seus gêneros representados na análise combinada “grande”. Informações adicionais sobre os agrupamentos resultantes de cada análise combinada e sobre o mapeamento dos caracteres morfológicos, estão descritas no Anexo 2.

Apesar da baixa resolução em diversos nós dos cladogramas, foi possível constatar que uma série de atributos morfológicos (da morfologia externa, polínicos e de sementes) sustentam agrupamentos importantes. Helieae, por exemplo, é definida pelas seguintes

sinapomorfias: sépalas com margem hialina; estilete achatado, retorcido e persistente nos frutos; fruto pêndulo; pólen liberado em tétrades; e sementes angulosas, com testa apresentando espessamentos em bandas. Futuras análises que venham a incluir novos conjuntos de dados poderão, possivelmente, revelar outros caracteres promissores.

O estudo do hábito das plantas e do merisma das flores revelou que os estados “hábito lenhoso” e “flores polímeras” evoluíram diversas vezes independentemente em Gentianaceae. Com a análise da evolução do hábito lenhoso, evidenciou-se a importância da inclusão, em estudos futuros, de dados referentes ao ciclo de vida das plantas (anual vs. perene). A investigação da correlação entre ambos os atributos poderá auxiliar no entendimento dos eventos de origem e diversificação do hábito lenhoso em Gentianaceae, os quais podem estar associados ao padrão de especiação de algumas linhagens da família.

Discussões acerca das filogenias obtidas, bem como das análises de evolução de caracteres, encontram-se detalhadas no Anexo 2.

Referências bibliográficas

- Struwe, L., Albert, V.A., Calió, M.F., Frasier, C., Lepis, K.B., Mathews, K.G., Grant, J.R., 2009. Evolutionary patterns in Neotropical Helieae (Gentianaceae): evidence from morphology, chloroplast and nuclear DNA sequences. *Taxon* 58(2): 479-499. Anexo 2.
- Struwe, L., Kadereit, J., Klackenberg, J., Nilsson, S., Thiv, M., von Hagen, K.B. & Albert, V.A. 2002. Systematics, character evolution, and biogeography of Gentianaceae, including a new tribal and subtribal classification. In: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.) *Gentianaceae – Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 21-309.

— CAPÍTULO 3 —



LISIANTHUS PENDULUS

EXTRAÍDO DE NOVA GENERA ET SPECIES PLANTARUM

**ESTUDO FILOGENÉTICO DE HELIEAE (GENTIANACEAE) COM ÊNFASE NOS LIMITES
GENÉRICOS DE *CALOLISIANTHUS* GILG, *CHELONANTHUS* GILG E *HELIA* MART.,
BASEADO EM DADOS MOLECULARES E MORFOLÓGICOS**

CAPÍTULO 3

Estudo filogenético de Helieae (Gentianaceae) com ênfase nos limites genéricos de *Calolisianthus* Gilg, *Chelonanthus* Gilg e *Helia* Mart., baseado em dados moleculares e morfológicos¹

Abstract

Phylogenetic relationships in Helieae (Gentianaceae) were investigated. DNA sequences from two nuclear regions (ITS and 5S-NTS) and morphological data were analyzed separately and in combination using parsimony and Bayesian inference. A total of 86 specimens representing 17 and 51 Helieae genera and species, respectively, were included in the phylogenetic analyses; 47 specimens are sequenced for both regions, and eight have only morphological data. The complete data set produced topologies largely congruent with the ones obtained from two subsets, one without missing data, and another including taxa without data for one molecular partition. The use of new information led to a consistent result in the relative position of some clades and allowed defining new generic circumscriptions for *Calolisianthus*, *Chelonanthus*, *Helia*, and, to a lesser extent, *Symbolanthus*.

Keywords 5S-NTS, generic circumscription, Gentianaceae, Helieae, ITS, morphology, phylogeny, total evidence

Resumo

As relações filogenéticas de Helieae (Gentianaceae) foram investigadas. Sequências de DNA de duas regiões nucleares (ITS e 5S-NTS) e dados morfológicos foram analisados separadamente e em conjunto por meio de análises de parcimônia e Bayesiana. Foram incluídos 86 espécimes representantes de 17 gêneros e 51 espécies de Helieae. Desse total, 47 espécimes possuem seqüências das duas regiões e oito possuem apenas dados morfológicos. O conjunto de dados completo gerou topologias largamente congruentes com aquelas obtidas com a análise de dois subconjuntos, um sem "dados ausentes" e outro incluindo táxons sem dados para uma das partições moleculares. A inclusão de maior número de táxons e de um novo conjunto de dados gerou um resultado consistente quanto

¹ A ser submetido à revista internacional *Molecular Phylogenetics and Evolution*.

ao posicionamento relativo de alguns clados, permitindo a definição de novas circunscrições genéricas para *Calolisianthus*, *Chelonanthus*, *Helia* e, em menor grau, para *Symbolanthus*.

Palavras-chave 5S-NTS, circunscrição genérica, evidência total, Filogenia, Gentianaceae, Helieae, ITS, morfologia

1. Introdução

Gentianaceae Juss. é uma família de Angiospermae que se distribui praticamente por todas as regiões terrestres do globo (exceto Antártica), ocupando uma grande variedade de habitats e apresentando uma ampla diversidade morfológica (Albert e Struwe 2002).

O uso de seqüências de DNA plastidial, especificamente *trnL* intron e *matK*, contribuiu com o aumento do conhecimento acerca das relações filogenéticas dentre as Gentianaceae (Struwe et al., 1998, 2002; Thiv et al., 1999). Os resultados desses estudos levaram Struwe et al. (2002) a apresentarem uma nova classificação no nível genérico e de tribos, que, apesar de se basear apenas em dados moleculares, apresenta grande congruência com dados de morfologia externa (Mészáros et al., 2002), palinológicos (Nilsson, 2002) e químicos (Jensen e Schripsema, 2002). Foram reconhecidas 6 tribos monofiléticas – Saccifolieae, Exaceae, Chironieae, Gentianeae, Potalieae e Helieae – além de um gênero com posicionamento incerto, *Voyria* (Struwe et al., 2002). Dessas, apenas Saccifolieae e Helieae são endêmicas da região neotropical, sendo Helieae maior em número de gêneros e espécies.

Helieae, apesar de ser uma tribo que apresenta grande diversidade morfológica, pode ser caracterizada pelo cálice com estruturas glandulares na região dorsal ou com áreas glandulares nos lobos, filetes de comprimentos desiguais, anteras recurvadas depois da antese e com apêndices apicais estéreis, estigma bilamelado, e estilete achatado que se enrola quando seco (Struwe et al., 2002).

O primeiro estudo com o objetivo de elucidar as relações filogenéticas em Helieae foi realizado por Struwe et al. (2009). Baseando-se em dados moleculares e morfológicos, as análises sustentaram a monofilia da tribo, bem como de algumas subdivisões internas. Foi constatada a necessidade de rever a classificação dos gêneros *Chelonanthus* Gilg e *Irlbachia* Mart., pois ambos emergiram como não monofiléticos. Mais especificamente, a espécie-tipo de *Chelonanthus*, *Ch. purpurascens*, emergiu separadamente das demais espécies (denominadas informalmente de "*Chelonanthus* de flores verdes"), e *I. pratensis* emergiu no mesmo clado de *Ch. purpurascens*, mas separadamente das demais *Irlbachia*.

Apesar desse estudo ter sido bastante elucidativo, ainda são necessários novos trabalhos para resolver as relações filogenéticas internas da tribo.

Dentro desse contexto, o presente estudo visa (1) esclarecer as relações intergenéricas em Helieae, usando novas seqüências de DNA nuclear; (2) estudar o efeito da maior amostragem de táxons e da adição de um novo conjunto de dados na filogenia da tribo; (3) embasar conclusões filogenéticas com toda a informação disponível, incluindo caracteres morfológicos, por meio de análise de evidência total; (4) fornecer embasamento para novas circunscrições genéricas; (5) evidenciar possíveis sinapomorfias morfológicas para caracterizar clados em particular; (6) sugerir um cenário biogeográfico da história da tribo.

2. Materiais e métodos

2.1. Amostragem de táxons

Foram analisados 17 dos 23 gêneros de Helieae, totalizando 51 espécies da tribo, além de 20 gêneros de Chironieae, Gentianaea e Potalieae juntas, totalizando 73 espécies de Gentianaceae. Devido às incertezas quanto às relações entre Helieae, Gentianeae e Potalieae (Struwe et al., 2002), seguiu-se a proposta de ampla seleção de táxons como grupo-externo apresentada por Struwe et al. (2009). Das 51 espécies do grupo-interno, representadas por 86 espécimes, 8 foram incluídas somente com dados morfológicos nas análises: *Chelonanthus* sp. ined. 1, *Lagenanthus princeps* (Lindl.) Gilg, *Lehmanniella splendens* (Hook.) Ewan, *Neblinantha neblinae* Maguire, *N. parvifolia* Maguire, *Rogersonanthus arboreus* (Britton) Maguire et B.M. Boom, *Symbolanthus argyreus* (Maguire) Struwe et K.R. Gould, *S. elisabethae* (M.R. Schomb.) Gilg. As demais possuem seqüências de ao menos um dos conjuntos de dados moleculares (Tabela 1).

Foram estudadas as regiões ITS (*internal transcribed spacer*) e 5S-NTS (*non transcribed spacer* do gene 5S) do DNA nuclear ribossomal. No total, 47 seqüências de ITS e 44 de 5S-NTS foram obtidas para o presente estudo (em outro momento, serão submetidas ao *Genbank*), representando principalmente gêneros que haviam sido pouco estudados até então (Tabela 1). Dependendo da disponibilidade de material, mais de um espécime de cada espécie foi analisado, utilizando-se amostras provenientes de material desidratado em sílica-gel ou de material de herbário (Tabela 1). Além disso, foram utilizadas 51 seqüências de ITS e três de 5S-NTS obtidas diretamente do *Genbank* (Tabela 1).

2.2. Dados morfológicos

A matriz morfológica utilizada nesse estudo é basicamente a mesma apresentada por Struwe et al. (2009), com algumas alterações, i.e. adição ou remoção de caracteres, codificação de todos os caracteres referentes às espécies que ainda não haviam sido amostradas, e modificações na codificação de alguns caracteres, devido ao aumento do conhecimento sobre a morfologia do grupo (Apêndices A e B). Os critérios para seleção dos caracteres, delimitação dos estados e tratamento dos dados estão descritos em Struwe et al. (2009).

Os novos dados morfológicos foram obtidos a partir da análise de material preservado em álcool (durante expedições de coleta) ou de material herborizado, proveniente dos seguintes herbários: AAU, ALCB, BHCB, BR, CHRB, CEN, CEPEC, CESJ, CGMS, COL, CTES, CVRD, ESA, ESAL, F, G, GUA, HB, HRB, HUUS (não indexado), HUEFS, HUFU, HXBH, IAC, IAN, IBGE, INPA, IPA, K, LIL, LP, MBM, MBML, MG, MO, NY, PMSP, R, RB, RBR, RUSU, S, SJRP, SP, SPF, SPFR, SPSF, U, UB, UEC, UFG, UPCB, UPS, US, VIC, W. Além disso, foram consultados os trabalhos de Bouman et al. (2002), Struwe et al. (2002) e Nilsson et al. (2002) para complementação dos dados sobre sementes e pólen.

2.3. Dados moleculares

As extrações de DNA genômico foram feitas a partir de material de herbário ou de folhas desidratadas em sílica-gel (Tabela 1), com emprego do *DNeasy plant mini kit* (Qiagen), seguindo o protocolo do fabricante com algumas modificações. Aproximadamente 1 cm² de folha seca foi triturada com pistilo em um tubo tipo *Eppendorf* com nitrogênio líquido, ou pulverizada em máquina *FastPrep* (Bio 101) por 15 seg à velocidade 5. Ao tubo com fragmentos de folha, foi adicionado 400 µl de tampão AP1 e 30 µl de β-mercaptoetanol (ao invés de 4 µl de solução estoque de RNase A); em seguida, o tubo foi incubado em banho a 65° C durante 10 min, com agitação periódica. Subseqüentemente, foi feita a adição de 130 µl de tampão AP2 e incubação em gelo por 5 min. Posteriormente, a amostra foi centrifugada a 13000 rpm durante 5 min. Desse ponto em diante, seguiu-se exatamente o protocolo fornecido pelo fabricante.

As reações de amplificação foram feitas em máquinas *DNA Engine with Dual Alpha Unit PTC 200* (Bio Rad) ou *GeneAmp® PCR System 9700* (Applied Biosystems). Na amplificação, foram utilizados dNTPs da marca IDT, os demais reagentes sendo da marca Promega. O DNA foi diluído (1:100) no caso de amostras estocadas em sílica-gel, ou utilizado sem diluição no caso de amostras de herbário. Sempre que possível, a região foi

amplificada duas vezes para cada espécime (em dois tubos separados) e, em seguida, os dois produtos finais foram combinados e homogeneizados.

A região do ITS (ITS1-5.8S-ITS2) foi amplificada utilizando-se os iniciadores desenhados por Nickrent et al. (1994). Algumas amostras somente puderam ser amplificadas com o uso dos iniciadores internos desenhados por White et al. (1990), de modo que o ITS1 e o ITS2 foram amplificados separadamente. A região foi amplificada em reações de 50 µl contendo: 10 µl tampão 5x, 1.5 µl 25mM MgCl₂, 1 µl dNTPs a 10 µM, 2 µl BSA, 2 µl de cada iniciador (10 µM), 0.4 µl de Taq polimerase e 1 µl de DNA. As condições utilizadas para amplificação foram: 1 min a 97 °C, seguido de 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 50 °C, 2 min a 72 °C, e extensão final por 4 min a 72 °C.

A região do 5S-NTS foi amplificada com os iniciadores desenhados por Cox et al. (1992). A região foi amplificada em reações de 50 µl contendo: 10 µl tampão 5x, 3.5 µl 25 mM MgCl₂, 1 µl dNTPs a 10 µM, 2 µl BSA, 2 µl de cada iniciador (10 µM), 0.2 µl de Taq polimerase e 1 µl de DNA. As condições utilizadas para amplificação foram: 2 min a 95 °C, 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 30-60 seg a 55-60 °C, 30-60 seg a 72 °C, e extensão final por 4 min a 72 °C.

Para avaliar a qualidade das regiões-alvo amplificadas, os produtos de PCR foram aplicados em gel de agarose a 1% (GIBCO) contendo brometo de etídio ou *Gel redTM Nucleic Acid Gel Stain* (Biotium) e visualizados sob luz UV. No caso da amplificação do ITS, para algumas amostras de herbário foi necessário fazer uma segunda PCR usando-se as mesmas quantidades de reagentes e 1-3 µL do produto da primeira PCR como molde, obtendo-se, dessa forma, um produto em concentração adequada para seqüenciamento. No caso do 5S-NTS, os produtos foram aplicados em gel de agarose *Low melting* a 1.2% (GIBCO) para separar as bandas múltiplas resultantes e extrair a banda-alvo (detectada por comparação do tamanho das bandas com o *ladder*, Invitrogen). O processo de extração de DNA do gel foi realizado com o *Illustra GFXTM DNA and gel band purification kit* (GE Healthcare), seguindo-se o protocolo do fabricante. Um microlitro do DNA da banda extraída foi utilizado como molde em uma segunda PCR, realizada sob as mesmas condições da primeira.

Os produtos de ampliações bem sucedidas (i.e., com apenas uma banda forte) foram purificados com o *Illustra GFXTM DNA and gel band purification kit* (GE Healthcare). Um homogeneizado contendo o produto de PCR e 200 µl de *Capture Buffer* foi transferido para um tubo de 1.5 ml. Em seguida, mais 300 µl de *Capture Buffer* foram adicionados a esse homogeneizado e, posteriormente, o volume total foi transferido para a coluna com filtro acoplada ao tubo coletor (fornecidos no *kit*). Desse passo em diante, foi seguido exatamente o protocolo apresentado nas instruções do fabricante. A etapa de eluição foi

feita com 40 ou 50 µl de água ultrapura, de acordo com a concentração aparente da amostra (visualizada no transiluminador).

As amostras purificadas foram aplicadas em gel de agarose a 4% juntamente com *Low mass DNA ladder* (Invitrogen) para quantificação aproximada da concentração. Em seguida, os produtos foram enviados ao Centro de Estudos do Genoma Humano (Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo), para realização das reações de seqüenciamento (com os mesmos iniciadores e mesmas condições das reações de amplificação) e seqüenciamento das amostras. O seqüenciamento foi feito em sistema MegaBACE 1000 (GE Healthcare), utilizando *DYEnamic ET Dye Terminator Kit* (com *Thermo SequenaseTM II DNA Polimerase*), e as seqüências foram analisadas pelo software *Sequence Analyser* utilizando o *Base Caller Cimarron 3.12*.

As condições acima descritas aplicam-se somente às amostras trabalhadas no Laboratório de Algas Marinhas "Édison José de Paula" (Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo) – as mesmas são indicadas por um asterisco na Tabela 1. As demais amostras foram amplificadas, purificadas e seqüenciadas em condições ligeiramente diferentes no "Plant Systematics Laboratory" (Rutgers University, NJ, EUA), por K. B. Lepis.

Apenas seqüências de boa qualidade, com picos únicos e distintos, foram utilizadas. As seqüências foram montadas e editadas com o Sequencher 4.8TM (Gene Codes Corp., Ann Arbor, Michigan, USA). As bases foram individualmente checadas, procurando-se concordância entre as fitas complementares. O alinhamento foi feito com o ClustalX 1.81 (Thompson et al., 1997), seguido de ajustes manuais feitos no MacClade 4.08 para OS X (Maddison e Maddison, 2005), usando o critério de similaridade (Simmons, 2004). A codificação de eventos de inserção/deleção (*indels*) não autapomórficos foi realizada manualmente seguindo o método de *simple indel coding* (Simmons e Ochoterena, 2000), sendo adicionados como caracteres binários nas matrizes de dados (Apêndices C e D). Todas as matrizes, alinhamentos e árvores serão disponibilizadas no TREEBASE (www.treebase.com).

2.4. Análises de dados

As partições de dados, i.e., Morfologia, ITS, *indels* do ITS, 5S-NTS e *indels* do 5S-NTS, foram analisadas individualmente ou combinadas, com variações nos táxons utilizados em cada análise para testar se a ausência de dados em algumas partições afetaria a topologia das análises combinadas (ver Tabela 2 para nomes das matrizes e respectivos conjuntos de dados e táxons). Em suma, além das matrizes das partições individuais, foram montadas matrizes contendo apenas dados moleculares combinados ("Combinadas Moleculares"), bem como matrizes combinando todos os dados moleculares e morfológicos

("Combinadas Totais"). Quanto ao número de táxons, há as matrizes "Pequenas", incluindo apenas táxons que contêm dados de todos os conjuntos, as "Médias", incluindo táxons que contêm dados de ao menos uma das partições moleculares, e as "Grandes" com todos os terminais, incluindo aqueles para os quais não se obtiveram dados moleculares. Optou-se por avaliar a congruência entre as partições por meio de comparações "nó-a-nó" para detectar clados conflitantes e com altos valores de sustentação.

Análises de máxima parcimônia foram conduzidas utilizando PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2000), com todos os caracteres tratados como não-ordenados e com o mesmo peso. As análises das matrizes "5S-NTS", "Combinada Molecular Pequena" e "Combinada Total Pequena" foram conduzidas com o sistema de busca denominado "A" (Tabela 3), com os seguintes parâmetros: busca heurística com 1000 réplicas de *random taxon addition sequence*, 10 árvores retidas a cada passo, e com TBR *branch swapping*, com ramos colapsados quando o comprimento mínimo era igual a zero. As matrizes "Morfologia", "ITS" e as combinadas "Molecular Média", "Total Média" e "Total Grande" foram analisadas com o sistema de busca denominado "B" (Tabela 3), composto de duas etapas com os seguintes parâmetros: i) busca heurística com 1000 réplicas de *random taxon addition sequence*, 10 árvores retidas a cada passo, com TBR *branch swapping* nas melhores árvores, com ramos colapsados quando o comprimento mínimo era igual a zero, e não mais do que 10 árvores salvas por réplica; ii) as melhores árvores encontradas em (i) foram usadas como árvores iniciais em uma segunda busca heurística usando TBR *branch swapping*, com ramos colapsados quando o comprimento mínimo era igual a zero, salvando múltiplas árvores (função MULTREES acionada), até atingir o limite de 200 mil árvores salvas. O sistema "B" foi empregado com o objetivo de explorar um maior número de ilhas do espaço amostral. Os níveis relativos de homoplasia em todas as partições foram acessados a partir dos índices de consistência (CI), de retenção (RI) e de homoplasia (HI), como implementados no PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2000).

A sustentação dos ramos foi obtida por meio de *bootstrap* (Felsenstein, 1985), seguindo o seguinte protocolo: busca heurística, 1000 réplicas de *bootstrap*, 1 *random addition sequence replicates*, com 1 árvore retida a cada passo, TBR *branch swapping*, salvando múltiplas árvores (função MULTREES acionada), até atingir o limite de 5 mil árvores salvas.

As inferências Bayesianas foram realizadas com o programa MrBayes versão 3.1.2 (Huelsenbeck e Ronquist, 2001; Ronquist e Huelsenbeck, 2003). O melhor modelo de substituição de nucleotídeos foi inferido com MrModeltest versão 2.2 (Nylander, 2004) e selecionado segundo o critério AIC ("SYM + I +G" para ITS e "HKY + G" para 5S-NTS). Os dados morfológicos e *indels* foram incluídos nas reconstruções filogenéticas e analisados com o modelo *standart discrete* (Lewis, 2001).

Cada análise foi feita com duas buscas paralelas, cada uma com 4 cadeias de Markov, utilizando os parâmetros padrão. Cada busca foi iniciada com uma árvore aleatória e rodada por 5 milhões de gerações, amostrando árvores da distribuição posterior a cada 100 gerações (para um total de 50.000 amostras). 25% das árvores foram descartadas como *burnin*, as restantes sendo utilizadas para computar o consenso de maioria (50%) e calcular as probabilidades posteriores dos clados. Não foram efetuadas análises Bayesianas a partir das matrizes "Combinadas Moleculares".

2.5. Estudo das sinapomorfias morfológicas

Dados morfológicos (Apêndices A e B) foram mapeados sobre a topologia da análise "Combinada Total Grande" seguindo o critério da parcimônia, como implementado no programa MacClade 4.08 para OS X (Maddison e Maddison, 2005), com o intuito de evidenciar possíveis sinapomorfias morfológicas.

2.6. Estudo biogeográfico

As áreas geográficas das espécies amostradas de *Helieae* e a topologia resultante da análise da matriz "Combinada Total Grande" foram utilizadas para reconstruir um cenário de sua história de distribuição espacial. Alguns ramos de *Helieae* foram retirados manualmente, de modo que cada espécie estivesse representada por apenas um ou dois ramos. Além disso, foram removidos os ramos correspondentes às outras tribos.

As áreas foram codificadas de acordo com a ocorrência das espécies dentro das províncias biogeográficas propostas por Cabrera e Willink (1980), com uma modificação: a província Guiana foi considerada como parte da província Amazônica. No caso das espécies que ocorrem em mais de uma província biogeográfica, a codificação considerou apenas a província em que a distribuição é mais expressiva, ou seja, a região para a qual há maior registro de coletas. Apenas para três espécies não foi possível fazer essa escolha, devido à distribuição igualmente expressiva em mais de uma província: *Chelonanthus matogrossensis* ocorre nas províncias biogeográficas Amazônica e dos Andes, enquanto *C. purpurascens* e *Tetrapollinia caerulescens* ocorrem nas províncias Amazônica e do Cerrado. As áreas foram tratadas como estados de um caráter não-ordenado, sendo otimizadas sobre a topologia empregando o critério da parcimônia, como implementado no programa MacClade 4.08 para OS X (Maddison e Maddison, 2005).

3. Resultados

3.1. Alinhamentos e análises filogenéticas

Não houve necessidade de excluir partes das seqüências de DNA, pois o alinhamento não apresentou áreas com ambigüidades.

Nas análises de parcimônia das matrizes em que se empregou o sistema de busca "B", não houve redução no comprimento das árvores obtidas após a segunda etapa. O comprimento das matrizes, estatísticas sobre as árvores e valores de CI, RI e HI para as análises individuais e combinadas estão sumarizadas na Tabela 3.

A partição "Morfologia" apresentou maior proporção relativa de caracteres informativos (98%), entretanto produziu as árvores de parcimônia e Bayesiana com menor resolução, bem como apresentou os menores valores de CI e RI e maior valor de HI. Outras partições que apresentaram valores altos de proporção relativa de caracteres informativos foram "5S-NTS com *indels*" e "5S-NTS sem *indels*" (77 e 75%, respectivamente).

3.1.1. Congruência entre partições

A comparação das topologias obtidas nas análises das partições individuais não evidenciou nenhuma relação incongruente e com altos valores de sustentação. Devido ao nível geral de congruência entre as diferentes partições, as mesmas foram combinadas. Apesar da análise individual da matriz "Morfologia" ter resultado em uma árvore de consenso estrito com pouca resolução (Apêndice E, Fig. E4), observou-se que a junção dos dados morfológicos aos moleculares (análises "Combinadas Totais", Figs 1 a 3; Apêndice E, Figs. E1 a E3) aumentou a resolução de alguns clados, tendo pouco efeito sobre os valores de CI, RI e HI. As árvores obtidas com as análises de cada matriz diferem principalmente no grau de resolução, este sendo mais baixo nas árvores resultantes das análises de partições individuais, e mais alto na análise da matriz "Combinada Total Média" (Fig. 2; Apêndice E, Fig. E2). O elevado número de clados bem sustentados nas análises de dados combinados, em relação às análises das partições individuais, sugere que os diferentes conjuntos de dados são amplamente congruentes. Por essa razão, consideramos as árvores obtidas com as análises das matrizes "Combinadas Totais" (Figs. 1, 2 e 3) as melhores aproximações das relações filogenéticas de *Helieae*, e, portanto, as discussões são baseadas nessas topologias (as demais são apresentadas no Apêndice E, Figs. E1 a E12).

3.1.2. Matriz de indels

A adição da matriz com os *indels* codificados não alterou significativamente as topologias obtidas, bem como pouco alterou os valores de CI, RI e HI (Tabela 3). Comparando-se as topologias obtidas a partir das matrizes "5S-NTS com *indels*" e "5S-NTS sem *indels*" (Apêndice E, Figs. E7 e E8), evidenciou-se que a adição dos *indels* à matriz gerou o colapso de três ramos pertencentes aos "*Chelonanthus* de flores verdes", bem como alterou o posicionamento de um espécime de *Ch. purpurascens*. Entretanto, na análise sem os *indels* codificados, esses agrupamentos apresentaram baixos valores de sustentação ou até mesmo nenhuma sustentação. A comparação entre as topologias obtidas com as análises das matrizes "ITS com *indels*" e "ITS sem *indels*" (Apêndice E, Figs. E5 e E6) evidenciou que a combinação dos mesmos com a matriz ITS, além de agrupar dois espécimes de *Calolisianthus speciosus*, levou ao colapso de parte dos ramos de Gentianeae; tais ramos, porém, não receberam valores de sustentação na análise sem *indels*.

Além dessas diferenças já apontadas para as matrizes individuais, as matrizes combinadas apresentaram, em alguns casos, outras pequenas alterações. Comparando-se as topologias obtidas com a análise "Total Média com *indels*" e "Total Média sem *indels*" (Fig. 2; Apêndice E, Fig. E2), evidenciou-se que a adição dos *indels* agrupou todas as espécies amostradas de Potalieae em um clado monofilético, tendo o mesmo efeito sobre os espécimes de *Ch. purpurascens*. Já a comparação entre as topologias obtidas com a análise "Total Grande com *indels*" e "Total Grande sem *indels*" (Fig. 1; Apêndice E, Fig. E1) evidenciou que a adição dos *indels*, apesar de recuperar Potalieae como monofilético, não agrupa os espécimes de *Ch. purpurascens*. Além disso, essa adição de *indels* agrupa *Chorisepalum psychotrioides* com as espécies de *Tachia*.

Apesar dessas pequenas diferenças, as topologias resultantes das análises das matrizes combinadas contendo os *indels* codificados foram escolhidas para embasar a discussão final, pois apresentaram maior número de caracteres informativos na análise de parcimônia e valores de CI, RI e HI semelhantes, bem como maior número de nós com PP maior do que 0.85, se comparadas às topologias das respectivas matrizes sem os *indels* codificados (Tabela 3). As árvores resultantes das demais análises são apresentadas no Apêndice E (Figs. E1 a E12).

3.1.3. Comparações entre topologias das análises de parcimônia e Bayesiana

As topologias resultantes das análises Bayesianas (não apresentadas) e de parcimônia são idênticas nos casos das partições moleculares individuais, enquanto que

aquelas resultantes das análises da matriz "Morfologia" e das "Combinadas Totais" são amplamente coincidentes, mas apresentam posicionamento diferente de alguns táxons. Tanto a análise de parcimônia quanto a análise Bayesiana da matriz "Morfologia" resultaram em topologias pouco resolvidas e com valores de sustentação baixos ou ausentes. Na análise Bayesiana, "*Ca. acutangulus*", *Ca. amplissimus*, *Ch. purpurascens* e todas as espécies de *Irlbachia* emergem em um clado (0.87 PP, probabilidade posterior), enquanto na análise de parcimônia tais espécies não se agrupam (Apêndice E, Fig. E4). Além disso, na análise de parcimônia, algumas espécies de *Calolisianthus* emergem em um clado com baixo valor de sustentação, enquanto que na Bayesiana tais espécies emergem em uma grande politomia.

Em relação às matrizes "Combinadas Totais", a maior parte das diferenças observadas entre as topologias obtidas nas análises de parcimônia e Bayesiana não altera a composição dos grandes clados resultantes e, de modo geral, correspondem a agrupamentos que em uma ou outra análise não receberam valores de sustentação significativos ou que emergiram totalmente sem resolução. A diferença entre as topologias resultantes das análises da matriz "Combinada Total Pequena" está no posicionamento de *Ch. grandiflorus*, que, na análise Bayesiana, agrupou-se com as espécies de *Helia*, *Ch. acutangulus* e *Ch. matogrossensis* (1.00 e 0.99 PP, com e sem *indels*, respectivamente), enquanto que na análise de parcimônia esse táxon agrupa-se com outras espécies de "*Chelonanthus* de flores verdes", ainda no clado H (Fig. 3; Apêndice E, Fig. E3). Nas análises das matrizes "Combinada Total Média" e "Combinada Total Grande", o resultado é semelhante, mas *Adenolisianthus arboreus* acompanha *Ch. grandiflorus* nos agrupamentos da análise Bayesiana ("Total Grande": 0.74 e 0.76 PP, com *indels* e sem *indels*, respectivamente; "Total Média": 1.00 e 1.00 PP, com *indels* e sem *indels*, respectivamente). Já na análise de parcimônia dessas mesmas matrizes, *Ch. grandiflorus* emerge em uma politomia dentro do clado H (Figs. 1 e 2; Apêndice E, Figs. E1 e E2).

Além dessas diferenças, a análise Bayesiana da matriz "Combinada Total Grande" apresentou *Ch. purpurascens* como monofilético (0.73 e 0.59 PP nas análises com e sem *indels*, respectivamente) e *I. pratensis* como espécie-irmã do clado F (0.97 PP nas análises com e sem *indels*). Tais resultados das análises Bayesianas não contradizem aqueles obtidos a partir das análises de parcimônia, pois nestas últimas os agrupamentos em questão não receberam sustentação por meio de *bootstrap* (Fig. 1; Apêndice E, Fig. E1). A maior diferença encontrada entre essas topologias, entretanto, está no posicionamento das duas espécies de *Neblinantha*, as quais, nas análises de parcimônia, emergem no clado E, enquanto na Bayesiana emergem no clado J (0.72 e 0.73 PP, nas análises com e sem *indels*, respectivamente). Dessa forma, os clados E, G, I e J não são exatamente iguais nas topologias das análises Bayesiana e de parcimônia, devido ao diferente posicionamento de

Neblinantha. É importante ressaltar que nenhum desses clados teve sustentação por meio de *bootstrap* na análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Grande" (Fig. 1; Apêndice E, Fig. E1); esse fato se deve, provavelmente, ao posicionamento das espécies de *Neblinantha*, uma vez que na análise da matriz "Combinada Total Média" (Fig. 2; Apêndice E, Fig. E2), que não inclui tais táxons, os mesmos clados receberam altos valores de sustentação.

Excetuando-se o posicionamento de *Neblinantha*, os consensos estritos de parcimônia e os consensos de maioria das análises Bayesianas apresentaram topologias quase idênticas. Por essa razão, neste trabalho são apresentadas apenas as topologias das análises de parcimônia, às quais foram adicionados os valores de *bootstrap* e de probabilidades posteriores da análise Bayesiana (Figs. 1 a 3; Apêndice E, Figs. E1 a E12).

3.1.4. Principais resultados filogenéticos

A topologia resultante da análise da matriz "Combinada Total Grande com *indels*" (Fig. 1) é aqui utilizada para a descrição dos principais clados resultantes, entretanto é possível notar que os mesmos clados (indicados por letras e números ou nomes) estão presentes nas topologias obtidas com as matrizes "Combinada Total Média com *indels*" (Fig. 2) e "Combinada Total Pequena com *indels*" (Fig. 3). Os principais resultados são:

- (1) Potalieae, Gentianeae e Helieae emergem como 3 grupos monofiléticos, sustentados, respectivamente, por: 61 de porcentagem de *bootstrap* (PB) e 0.99 PP; 78 PB e 1.00 PP; 91 PB e 1.00 PP.
- (2) *Prepusa montana* emerge como grupo-irmão das demais Helieae (clado A; 90 PB, 1.00 PP).
- (3) *Macrocarpaea* (clado Mac; 100 PB, 1.00 PP), *Tachia* (clado Tac; 100 PB, 1.00 PP) e *Chorisepalum* emergem juntas (clado B; 60 PB, 0.94 PP), sendo *Chorisepalum* mais proximamente relacionado a *Tachia* (0.82 PP).
- (4) esse clado formado por *Macrocarpaea*, *Tachia* e *Chorisepalum* é irmão do clado C (73 PB, 0.98 PP), que é composto por dois ramos: um contendo três espécies de *Irlbachia* (clado Irl; 98 PB, 1.00 PP) e outro com todas as demais espécies (clado D; 63 PB, 0.98 PP).
- (5) o clado D, por sua vez, é formado por dois clados, o clado E e o clado G, ambos sem valores de sustentação na análise "Combinada Total Grande" (mas muito bem sustentados nas demais análises).
- (6) o clado E é formado por espécies de diversos gêneros, cujo relacionamento é difícil de ser discutido devido à falta de sustentação de alguns ramos. Entretanto, dentro desse clado, as espécies *Calolisianthus amplissimus*, "*Ca. acutangulus*" (ambas formando o

clado Cal1; 100 PB, 1.00 PP) e *Ch. purpurascens* agrupam-se consistentemente (clado F; 93 PB, 1.00 PP).

- (7) os cladogramas H e I compõem o clado G, sendo que apenas o clado H possui sustentação na análise "Combinada Total Grande" (62 PB, 0.99 PP). Esse clado é formado pelas duas espécies de *Helia* (Clado Hel, 100 PB, 1.00 PP), por *Adenolisianthus arboreus* e por todas as espécies de "*Chelonanthus* de flores verdes"; entretanto, as relações entre todas essas espécies não se apresentam resolvidas.
- (8) O clado I é formado pelos cladogramas J e K, sendo que J não possui sustentação na análise "Combinada Total Grande" (embora seja muito bem sustentado na "Combinada Total Média"), sendo formado por espécies descritas em dois gêneros, *Symbolanthus* (clado Sym) e *Rogersonanthus* (clado Rog, 82 PB, 1.00 PP).
- (9) O Clado K (78 PB, 0.99 PP) contém espécies de dois gêneros, todos os terminais de *Tetrapollinia* (clado Tet; 100 PB, 1.00 PP) e alguns pertencentes a *Calolisianthus* (clado Cal2; 100 PB, 1.00 PP).

3.2. Estudo das sinapomorfias morfológicas

O mapeamento dos caracteres morfológicos evidenciou alto grau de homoplasia; entretanto, em alguns casos, certos atributos configuram-se como sinapomorfias de determinados cladogramas (Figs. 4 e 5). Uma discussão completa sobre tais caracteres é apresentada na seção 4.2.

3.3. Estudo biogeográfico

As espécies de Helieae utilizadas nesse estudo ocorrem em cinco províncias biogeográficas segundo o sistema de Cabrera e Willink (1980): Amazônica (concentrando maior número de linhagens), do Cerrado, dos Andes, Atlântica e do Caribe. A reconstrução da província ocupada pelo ancestral do clado A (todas as espécies exceto o clado de *Prepusa*) indicou a província Amazônica como provável área de distribuição ancestral (Fig. 6).

4. Discussão

4.1. Rumo a uma filogenia mais resolvida utilizando dados combinados

Um dos objetivos do presente estudo foi ampliar o número de espécies do clado "*Symbolanthus*" *sensu* Struwe et al. (2009) com dados moleculares amostrados, principalmente da região ITS, a qual havia se mostrado bastante informativa. A comparação entre a topologia resultante da análise individual da matriz "ITS" (Apêndice E, Figs. E5) e a topologia apresentada por Struwe et al. (2009), com o mesmo conjunto de dados, mas menor número de táxons estudados, evidenciou que apenas a maior amostragem de espécies com dados de ITS não levou ao aumento da resolução da topologia. Com base apenas nos dados de ITS, o presente estudo obteve exatamente os mesmos clados obtidos anteriormente por Struwe et al. (2009), apresentando praticamente o mesmo grau de informação entre os mesmos. Isso indica que o emprego do ITS para resolver as relações em Helieae é limitado, pois, apesar de fornecer sustentação para grandes clados, não permite a resolução de grupos menos inclusivos.

De fato, foi claramente a combinação dos dados de ITS com dados de 5S-NTS, uma região notória por sua rápida taxa de evolução (Sastri et al., 1992), que resultou em maior resolução entre os clados menos inclusivos, anteriormente pouco resolvidos. É importante ressaltar que ambos os conjuntos de dados mostraram-se bastante congruentes e complementares, pois individualmente reconstruíram os mesmos clados principais e, quando combinados, resultaram em uma árvore mais resolvida.

Por outro lado, a combinação dos dados moleculares com os dados morfológicos merece ênfase especial. A comparação entre as topologias obtidas com as análises das matrizes "Combinada Molecular Média" (Apêndice E, Fig. E9) e "Combinada Total Média" (Fig. 2), ou seja, análises com exatamente o mesmo conjunto de táxons, mostra que a adição da morfologia não alterou a composição dos grandes clados obtidos a partir da análise de dados moleculares, e aumentou a resolução dentro dos clados menos resolvidos (e.g., clados G e E, Fig. 1).

Entretanto, a inclusão de táxons apenas com dados morfológicos (matriz "Combinada Total Grande", Fig. 1) pode ocasionar problemas. O primeiro, e mais óbvio, é a grande quantidade de "dados ausentes" – um problema não intrínseco ao conjunto de dados morfológicos *per se* – que claramente resulta em redução geral dos valores de sustentação e diminuição da resolução de alguns clados (na maior parte das vezes, clados que não apresentaram valores altos de sustentação na análise "Combinada Total Média", Fig. 2). Apesar disso, os "dados ausentes" não necessariamente impedem o posicionamento

desses táxons com seus congêneres (e.g., *Symbolanthus argyreus* e *S. elisabethae*, que agruparam-se com as demais espécies de *Symbolanthus*).

O segundo problema causado pela inserção de táxons apenas com dados morfológicos é o possível posicionamento incorreto dos mesmos. Um exemplo dessa asserção é o posicionamento de *Calolisianthus amplissimus*. No estudo de Struwe et al. (2009), essa espécie, incluída na análise apenas com dados morfológicos, emergiu juntamente com as demais espécies de *Calolisianthus*, formando um grupo monofilético. No presente estudo, *Ca. amplissimus*, incluído na análise também com dados moleculares, emergiu em outro clado, configurando-se como uma espécie filogeneticamente distante das demais espécies do gênero. Provavelmente, esse problema é causado pelo grande compartilhamento de atributos morfológicos dentre as espécies de Helieae como um todo, fato responsável por grande parte dos problemas taxonômicos que historicamente envolveram os táxons da tribo (para uma revisão sobre o assunto, vide Struwe e Albert, 1998; Zijlstra et al., 1999). Por fim, esse compartilhamento generalizado de atributos morfológicos reflete-se na qualidade dos caracteres utilizados na matriz, a grande maioria homoplástica.

O terceiro e último problema foi detectado apenas por meio da comparação entre as topologias resultantes das análises de parcimônia e Bayesiana da matriz "Combinada Total Grande", e deve ser resultante não somente do uso de táxons apenas com dados morfológicos, mas também dos métodos empregados para reconstrução filogenética. Ambas as formas de análise resultaram em topologias bastante congruentes, inclusive similares quanto ao posicionamento de seis táxons dos quais se possuía apenas dados morfológicos. Entretanto, as duas espécies de *Neblinantha*, cujo posicionamento também dependia apenas de dados morfológicos, emergiram em clados distintos em cada análise. É difícil entender por que razão somente esses táxons apresentaram posicionamento tão distinto, mas o resultado indica que pelo menos um dos métodos empregados falha na reconstrução filogenética, talvez devido à utilização de menor quantidade de dados (no caso, apenas dados morfológicos) ou à qualidade dos dados morfológicos (neste caso, muito homoplásticos).

Apesar dos problemas observados, acredita-se que o emprego dos dados morfológicos é essencial no estudo das relações filogenéticas de Helieae, mesmo que talvez ainda estejam na forma de uma matriz incompleta, pois tais dados são, em grande parte, responsáveis pelo direcionamento de pesquisas futuras e são as evidências fenotípicas visíveis dos padrões evolutivos que tentamos desvendar.

4.2. Circunscrições genéricas

Struwe et al. (2009) apontaram a necessidade de redefinir os gêneros de Helieae. O presente trabalho, além de fornecer maior embasamento para as circunscrições sugeridas naquele trabalho, traz evidências para outras redelimitações, em alguns casos bastante distintas das circunscrições tradicionais.

4.2.1. *Calolisianthus*

Na filogenia apresentada por Struwe et al. (2009), *Calolisianthus* foi apresentado como um gênero monofilético. Entretanto, o presente trabalho refutou a monofilia desse gênero em sua circunscrição tradicional, pois as espécies que o compõem emergem em dois clados não proximamente relacionados, ambos com altos valores de sustentação (Fig. 1, clados Cal1 e Cal2). Tradicionalmente, essas espécies foram tratadas em conjunto devido às suas similaridades morfológicas e distribuição geográfica coincidente (e.g., Gilg, 1895), mas, à luz desses novos resultados, atentou-se para características que sustentam essa separação.

O clado Cal1, formado por *Ca. amplissimus* e "*Ca. acutangulus*", agrupou-se com *Ch. purpurascens* formando o clado F, que é caracterizado pela presença de pólen liberado em políades (car. 88, Fig. 4a) e presença de alças na exina (car. 91, Fig. 4b). É importante ressaltar que ambas as características são compartilhadas por outros grupos: o pólen também é liberado em políades nas espécies do clado Irl e em *I. pratensis*, e alças na exina também são encontradas em *I. pratensis* e nas espécies de *Neblinantha*. Isso indica que tais características são provavelmente sinapomorfias de um nível mais abrangente. Por exemplo, no caso do car. 91, as alças da exina seriam sinapomorfia do clado E, com reversão no clado-irmão de *Neblinantha*. No caso do car. 88, devido à reconstrução equívoca, o nível ao qual se aplica à sinapomorfia é incerto. Do modo como se apresenta, o pólen liberado em políades pode ser interpretado como: a) uma novidade evolutiva que surgiu no ancestral do clado C, com posteriores reversões no clado-irmão do clado F e no clado G; ou b) uma característica que surgiu independentemente nos ancestrais dos clados Irl e do clado E, seguida de reversão no clado-irmão do clado F. Apesar desse compartilhamento com outros grupos, tais características sustentam o não relacionamento entre os clados Cal1 e Cal2 (que compreende as demais espécies de *Calolisianthus*). Outras características presentes nas espécies do clado F e ausentes no clado Cal2 são as margens ciliadas ou papilosas dos lobos do cálice e da corola (cars. 39 – Fig. 4c – e 58) e os filetes achatados (car. 69, Fig. 4d), em oposição às margens sem cílios ou papilas e aos

filetes cilíndricos presentes em todas as espécies do clado Cal2. Tais caracteres, por sua vez, também são homoplásticos, mas permitem a caracterização de clados em particular.

O clado Cal2, que compreende *Calolisianthus pedunculatus*, *Ca. pendulus*, *Ca. speciosus* e *Ca. sp. ined.*, apesar de emergir com alta sustentação, não apresenta nenhum atributo morfológico que seja exclusivo, sendo caracterizado apenas por sinapomorfias homoplásticas. Por exemplo, considerando apenas o clado I, no qual estão inseridos os clados Cal2, Tet, Sym e Rog, lobos da corola com ápice escurecido (car. 57, Fig. 4e) é sinapomorfia de Cal2; entretanto, considerando-se a tribo toda, "região escurecida no ápice do lobo da corola" configura-se como um caráter homoplástico, devido ao compartilhamento dos lobos escurecidos com outros clados, i.e, clados H e Cal1, e com *Purdieanthus*.

Em termos taxonômicos, essa divisão das espécies tradicionalmente tratadas como *Calolisianthus* em dois clados distintos e não aparentados implica a necessidade de rever a circunscrição do gênero. *Ca. amplissimus* é a espécie-tipo do gênero, e, por essa razão, o nome *Calolisianthus* deveria permanecer ligado a tal espécie. Sendo assim, as espécies do clado Cal2 necessitariam de um novo nome, o que poderia ser conseguido por meio da descrição de um novo gênero ou por transferência para gêneros filogeneticamente aparentados. Entretanto, essa espécie-tipo é um lectótipo (designado por Pringle, 1995), e suas características morfológicas, principalmente polínicas, contradizem o protólogo do gênero. Segundo o Código Internacional de Nomenclatura Botânica (ICBN, 2006), essa é uma das razões para se rejeitar uma lectotipificação. Dentro desse panorama taxonômico e filogenético, proporemos uma nova lectotipificação com uma das espécies do clado Cal2, mantendo o nome genérico ligado às espécies desse clado (Calió e Pirani, em prep.; Capítulo 4). Isso evitará a descrição de um novo gênero ou a proliferação de novas combinações em uma tribo reconhecida por sua complicada história nomenclatural.

4.2.2. *Chelonanthus*

Com a nova lectotipificação de *Calolisianthus*, *Ca. amplissimus* e "*Ca. acutangulus*" precisam ser transferidos para outro gênero. O posicionamento de ambas as espécies juntamente com *Chelonanthus purpurascens*, a espécie-tipo de *Chelonanthus*, formando o clado F, fornece embasamento para transferência de tais espécies para *Chelonanthus* (vide capítulo 6 desta Tese). Vale ressaltar que o clado F é fortemente sustentado e bem caracterizado morfológicamente, principalmente por caracteres polínicos (ver seção 4.2.1 para maior detalhamento). Além dos caracteres descritos na seção anterior, a cor lilás da corola, presente tanto em táxons de Cal1 como em Cal2, é um atributo que deve ser enfatizado. Observações realizadas nas populações naturais mostraram que a cor lilás que *Ca. amplissimus*, "*Ca. acutangulus*" e *Ch. purpurascens* exibem difere levemente da cor lilás

presente em *Ca. speciosus*. Essa diferença pode ser uma evidência de que os pigmentos responsáveis pela coloração da corola em tais táxons sejam, de fato, distintos e não deveriam ser categorizados em conjunto. Entretanto, para a elaboração do caráter "cor de flor" (car. 44) apenas o padrão geral de coloração da corola foi levado em consideração, sem atenção às nuances particulares existentes. O mapeamento da cor de flor evidencia o surgimento independente do estado "azul, roxo, lilás" em diversos grupos (Fig. 4f). Dentro desse panorama, a investigação detalhada da química dos pigmentos florais poderia trazer informações para codificação apropriada dos estados desse caráter. Se fosse constatado que a diferença observada realmente corresponde à uma composição química distinta, a cor lilás, tal como exibida por *Ca. amplissimus*, "*Ca. acutangulus*" e *Ch. purpurascens*, poderia se configurar como uma robusta sinapomorfia do clado F.

4.2.3. *Helia s.str.* e *Helia s.l.*

Ambas as espécies tradicionalmente tratadas como *Helia* (*H. brevifolia* e *H. oblongifolia*) emergiram em um clado com altos valores de sustentação (clado Hel = *Helia s.str.*). A presença de ócrea, a corola não inflada e os estiletos eretos (cars. 20 – Fig. 5a – 45 e 61, respectivamente) são consistentes sinapomorfias morfológicas do clado, embora sejam compartilhadas pontualmente com outros clados mais distantes.

Esse pequeno clado emerge dentro de um grupo maior, juntamente com *Adenolisianthus* e todas as espécies de "*Chelonanthus* de flores verdes" (clado H). Todas as espécies desse clado maior compartilham diversos atributos morfológicos, como ápice dos lobos da corola escurecido, botão floral com ápice arredondado, anteras eretas e exina espessada no equador (cars. 57, 55, 70 e 92, respectivamente; Figs. 4e, 5b-d). Tais atributos poderiam se configurar como sinapomorfias de um só gênero que incluísse todas as espécies desse clado, assim como foi sugerido por Struwe et al. (2009), embora sejam homoplásticos. O nome genérico mais antigo disponível para nomear esse clado é *Helia*, descrito por Martius (1827). Vale ressaltar que a espécie tipo de *Chelonanthus*, *Ch. purpurascens*, emerge em outro clado (clado F), separadamente das espécies de "*Chelonanthus* de flores verdes", o que faz com que essas espécies de fato necessitem de um novo nome genérico. Além disso, *Adenolisianthus* é um gênero monoespecífico e poderia ser adequadamente incluído em um gênero mais amplo, sem envolver grandes complicações nomenclaturais.

Com base nisso, futuramente apresentaremos um estudo de revisão de *Helia s.l.*, incluindo as duas espécies de *Helia s.str.*, *Adenolisianthus* e as nove espécies de "*Chelonanthus* de flores verdes" (correspondente ao clado H). Dados parciais obtidos com o

estudo das espécies de *Helia s.str.* e questões quanto à tipificação do nome do gênero são apresentados no capítulo 7 desta Tese.

4.2.4. *Symbolanthus*

O presente estudo evidenciou a proximidade filogenética de *Rogersonanthus* com as espécies de *Symbolanthus*, formando o clado J. Esse resultado foi surpreendente, pois, no estudo de Struwe et al. (2009), *Rogersonanthus* emergiu juntamente com os "*Chelonanthus* de flores verdes". Essa divergência entre os resultados obtidos naquele e no presente estudo se deve, provavelmente, à inclusão de dados moleculares de uma espécie de *Rogersonanthus*, que anteriormente fora incluída nas análises apenas com dados morfológicos.

O clado J é sustentado por duas sinapomorfias morfológicas: o hábito lenhoso e a presença de lacunas estaminais (cars. 1 – Fig. 5e – e 63, respectivamente). Além dessas, pode ser caracterizado também pela corola decídua no fruto (car. 53, Fig. 5f), apesar desse ser um caráter bastante homoplástico. Com base nesse compartilhamento de atributos, as três espécies de *Rogersonanthus* serão futuramente sinonimizadas sob *Symbolanthus*.

4.3. Estudo biogeográfico

O emprego de "províncias biogeográficas" para reconstrução de áreas ancestrais impõe alguns limites para inferências precisas, permitindo apenas uma abordagem generalizada quanto à região florística ocupada pela linhagem ancestral. Entretanto, essa abordagem generalizada pode ser bastante conveniente, especialmente em grupos nos quais as relações filogenéticas ainda não estão claramente estabelecidas, e para os quais o emprego de uma codificação mais refinada (i.e., com áreas mais restritamente delimitadas) certamente resultaria na impossibilidade da reconstrução da área ancestral.

Embora não tenha sido possível a reconstrução da área ancestral no nó basal da tribo, é possível extrapolar que a tribo inteira, incluindo o clado de *Prepusa*, teve origem na província Amazônica, apesar de *Prepusa* ocorrer atualmente na província biogeográfica do Cerrado. A ausência de gêneros de Gentianeae, tribo-irmã de Helieae, na província do Cerrado corrobora essa hipótese. Os resultados obtidos no presente estudo sugerem que, a partir da província Amazônica, a tribo experimentou maior diversificação por meio da colonização de outras províncias neotropicais; tal padrão é observado em diversas outras famílias de Angiospermas (para exemplos das conexões entre regiões da província Amazônica e regiões das demais províncias biogeográficas, vide Fiaschi e Pirani, no prelo).

Apesar das limitações que nossos resultados nos impõem, julgamos que inferências preliminares quanto ao cenário geral de história biogeográfica do grupo sejam oportunas, principalmente por permitir o direcionamento de pesquisas futuras, especialmente quanto ao estudo de atributos morfológicos e eco-fisiológicos que possam estar relacionados à ocupação das diferentes áreas. Por exemplo, com base em estudo filogenético das espécies de *Potalia* (Potalieae, Gentianaceae), Frasier et al. (2008) evidenciaram um padrão de especialização edáfica: espécies mais basais na filogenia ocorrem em áreas com solos arenosos e pobres em nutrientes, enquanto as demais espécies ocorrem em solos lateríticos; tal padrão sugere que "áreas de areias brancas" amazônicas sejam ancestrais e que a partir delas tenha havido diversificação e ocupação de outras áreas.

5. Conclusões

O presente estudo filogenético contribuiu significativamente para a elucidação quanto ao posicionamento de diversos táxons de Helieae e, com base nesses resultados, a circunscrição de alguns gêneros foi reavaliada. Embora a quantidade de espécies utilizadas na reconstrução filogenética de Helieae venha aumentando gradualmente nos últimos anos (Struwe et al., 2002; Struwe et al., 2009), a amostragem de táxons ainda é insuficiente e representa um grande obstáculo para o entendimento da evolução da tribo. Por exemplo, os dois gêneros com maior número de espécies, *Symbolanthus* e *Macrocarpaea* (com aproximadamente 30 e 100 espécies) estão representados nas análises por apenas seis e cinco espécies, respectivamente. Além disso, a inclusão de dados moleculares, além dos dados morfológicos, parece ser indispensável para o posicionamento de muitos táxons, em especial dos diversos gêneros que possuem apenas de 1 a 3 espécies. Somente com uma filogenia bem resolvida, incluindo maior número de táxons, será possível fazer inferências mais robustas quanto à evolução da tribo.

A importância relativa de dados morfológicos e moleculares na reconstrução de filogenias é questão bastante controversa, com forte tendência à maior valorização dos dados de seqüência de DNA (e.g., Scotland et al., 2003), existindo, entretanto, um clamor crescente pela maior inclusão de dados não-moleculares (e.g., Lee, 2004; Wiens, 2004). Estudos realizados em Helieae demonstraram que caracteres moleculares reconstróem hipóteses mais robustas (Struwe et al., 2002, 2009; o presente estudo), ao passo que reconstruções filogenéticas baseadas apenas em dados morfológicos freqüentemente resultam em topologias pouco resolvidas e com baixos valores de sustentação (e.g., Mészáros et al., 2002). Além disso, o mapeamento de atributos morfológicos, especialmente daqueles utilizados para caracterização e delimitação genérica, evidencia o alto grau de

homoplasia desse tipo de dado (Struwe et al., 2009; o presente estudo). Certamente, esse elevado compartilhamento de atributos morfológicos contribuiu para a complicada história taxonômica da tribo, que tradicionalmente apresentou problemas quanto à circunscrição dos gêneros.

Entretanto, com base nos resultados obtidos no presente estudo, mostrou-se que, apesar de homoplásticos, muitos atributos morfológicos configuram-se como sinapomorfias de clados em particular, dependendo do nível de generalidade da abordagem. Além disso, como no caso dos diferentes tons de lilases das corolas (ver seção 4.2.2), o próprio emprego dos caracteres para obter filogenias permite o teste de homologia do caráter (i.e., iluminação recíproca; Daly et al., 2001). É interessante ressaltar ainda que caracteres que anteriormente configuravam-se como homoplásticos tornaram-se sinapomórficos com a inclusão de novos conjuntos de dados, devido ao agrupamento das espécies caracterizadas por um determinado estado do caráter em questão; esse fato sugere que, em alguns casos, a presença de determinado atributo em clados não relacionados pode ser indicativo de falta de resolução da filogenia e, dessa forma, pode ser um bom direcionador de pesquisas futuras. Sendo assim, foi possível reavaliar a importância do emprego de caracteres morfológicos, que se mostraram essenciais no processo de reconstrução filogenética da tribo. Estudos futuros devem não apenas prosseguir com a inclusão de dados morfológicos utilizados anteriormente, mas também buscar novas fontes de evidências.

Referências

- Albert, V.A., Struwe, L., 2002. Gentianaceae in context. In: Struwe, L., Albert, V.A. (Eds.), *Gentianaceae – Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 1–20.
- Bouman, F., Cobb, L., Deventer, N., Goethals, V., Maas, P.J.M., Smets, E., 2002. The seeds of Gentianaceae. In: Struwe, L. and Albert, V.A. (Eds.), *Gentianaceae – Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 498–572.
- Cabrera, A.L., Willink, A., 1980. *Biogeografía de América Latina*. Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos, Washington, D.C.
- Calió, M. F., Pirani, J.R., em prep. Nova lectotipificação de *Calolisianthus* Gilg.
- Chassot, P., Nemomissa, S., Yuan, Y.-M., Küpfer, P., 2001. High paraphyly of *Swertia* L. (Gentianaceae) in the *Gentianella*-lineage as revealed by nuclear and chloroplast DNA sequence variation. *Plant Syst. Evol.* 229, 1–21.
- Cox, A.V., Bennet, M.D., Dyer, T.A., 1992. Use of the polymerase chain reaction to detect spacer size heterogeneity in plant 5S-rRNA gene clusters and to locate such clusters in

- wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 83, 684–690.
- Chen, S., Xia, T., Wang, Y., Liu, J., Chen, S., 2005. Molecular systematics and biogeography of *Crawfordia*, *Metagentiana* and *Tripterospermum* (Gentianaceae) based on nuclear ribosomal and plastid DNA sequences. *Ann. Bot.* 96, 413–424.
- Daly, D.C., Cameron, K.M., Stevenson, D.W., 2001. Plant systematics in the Age of Genomics. *Plant Physiol.* 127, 1328–1333.
- Felsenstein, J., 1985. Confidence-limits on phylogenies – an approach using the bootstrap. *Evolution* 39, 753–779.
- Fiaschi, P., Pirani, J.R., no prelo. Review of plant biogeographic studies in Brazil. *J. Syst. Evol.*
- Frasier, C.L., Albert, V.A., Struwe, L., 2008. Amazonian lowland, white sand areas as ancestral regions for South American biodiversity: biogeographic and phylogenetic patterns in *Potalia* (Angiospermae: Gentianaceae). *Org. Div. Evol.* 8, 44–57.
- Gilg, E.F., 1895. Gentianaceae. In: Engler, A., Prantl, K. (Eds.), *Die Natürlichen Pflanzfamilien*. Vol 4 (2). Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig, pp. 50–108.
- Gould, K.R., Struwe, L., 2004. Phylogeny and evolution of *Symbolanthus* and *Wurdackanthus* (Gentianaceae – Helieae) in the Guayana Highlands and Andes, based on ribosomal 5S-NTS sequences. *Ann. MO. Bot Garden* 91, 438–446.
- Hagen, K.B. von, Kadereit, J.W., 2001. The phylogeny of *Gentianella* (Gentianaceae) and its colonization of the southern hemisphere as revealed by nuclear and chloroplast DNA sequence variation. *Org. Div. Evol.* 1, 61–79.
- Huelsenbeck, J.P., Ronquist, F., 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17, 754–755.
- Jensen, S.R., Schripsema, J., 2002. Chemotaxonomy and pharmacology of Gentianaceae. In: Struwe, L., Albert, V.A. (Eds.), *Gentianaceae: Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 573–631.
- ICBN, 2006. McNeill, J., Barrie, F.R., Burdet, H.M., Demoulin, V., Hawksworth, D.L., Marhold, K., Nicolson, D.H., Prado, J., Silva, P.C., Skog, J.E., Wiersema, J.H. & Turland, N.J. (Eds.), *International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code)* adopted by the International Botanical Congress Vienna, Austria, July 2005, A.R.G. Gantner Verlag, Ruggel Liechtenstein.
- Lee, M.S.Y., 2004. Molecular and morphological datasets have similar numbers of relevant phylogenetic characters. *Taxon* 53, 1019–1022.
- Lewis, P.O., 2001. A likelihood approach to estimating phylogeny from discrete morphological character data. *Syst. Biol.* 50, 913–925.
- Maddison, D.R., Maddison, W.P., 2005. *MacClade4 (Versão 4.08): analysis of phylogeny*

- and character evolution. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Mansion, G., Struwe, L., 2004. Generic delimitation and phylogenetic relationships within the subtribe Chironiinae (Chironieae: Gentianaceae), with special reference to *Centaurium*: evidence from nrDNA and cpDNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 32, 951–977.
- Martius, C.F.P. von., 1827. *Nova genera et species plantarum quas in itinere per Brasiliam*, vol. 2. V. Wolf, München.
- Mészáros, S., Laet, J. De, Goethals, V., Smets, E., Nilsson, S., 2002. Cladistics of Gentianaceae: a morphological approach. In: Struwe, L., Albert, V.A. (Eds.), *Gentianaceae: Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 310–376.
- Nickrent, D.L., Schuette, K.P., Starr, E.D., 1994. A molecular phylogeny of *Arceuthobium* (Viscaceae) based on nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Am. J. Bot.* 81, 1149–1160.
- Nilsson, S., 2002. Gentianaceae – a review of palynology. In: Struwe, L., Albert, V. A. (Eds.), *Gentianaceae – Systematics and natural history*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 377–497.
- Nylander, J.A.A., 2004. MrModeltest versão 2.2. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University. Disponível em: <http://www.abc.se/~nylander/>
- Pringle, J.S., 1995. Family 159A. Gentianaceae. In: Harling, G., Andersson, L. (Eds.), *Flora of Ecuador*, vol. 53. Department of Systematic Botany, Gothenburg University, Göteborg, pp. 1–131.
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J.P., 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed model. *Bioinformatics* 19, 1572–1574.
- Sastri, D.C., Hilu, K., Appels, R., Lagudah, E.S., Playford, J., 1992. An overview of evolution in plant 5S DNA. *Plant Syst. Evol.* 183, 169–181.
- Scotland, R.W., Olmstead, R.G., Bennet, J.R., 2003. Phylogeny reconstruction: the role of morphology. *Syst. Biol.* 52, 539–548.
- Simmons, M.P., 2004. Independence of alignment and tree search. *Mol. Phylogenet. Evol.* 31, 874–879.
- Simmons, M.P., Ochoterena, H., 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Syst. Biol.* 49, 369–381.
- Struwe, L., Albert, V.A., 1998. *Lisianthus* P.Br., its probable homonym *Lisyanthus* Aubl. (Gentianaceae) and the priority of *Helia* Mart. over *Irlbachia* Mart. as its substitute. *Harvard Pap. Bot.* 3, 67–71.

- Struwe, L., Albert, V.A., Calió, M.F., Frasier, C., Lepis, K.B., Mathews, K.G., Grant, J.R., 2009. Evolutionary patterns in Neotropical Helieae (Gentianaceae): evidence from morphology, chloroplast and nuclear DNA sequences. *Taxon* 58, 479–499.
- Struwe, L., Kadereit, J., Klackenberg, J., Nilsson, S., Thiv, M., von Hagen, K.B., Albert, V.A., 2002. Systematics, character evolution, and biogeography of Gentianaceae, including a new tribal and subtribal classification. In: Struwe, L., Albert, V.A. (Eds.), *Gentianaceae – Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 21–309.
- Struwe, L., Thiv, M., Kadereit, J.W., Pepper, A.S.-R., Motley, T.J., White, P.J., Rova, J.H.E., Potgieter, K., Albert, V.A., 1998. *Saccifolium* (Saccifoliaceae), an endemic of Sierra de la Neblina on the Brazilian-Venezuelan frontier, is related to a temperate-alpine lineage of Gentianaceae. *Harvard Pap. Bot.* 3, 199–214.
- Swofford, D.L., 2000. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using parcimony * and Other Methods. Version 4.0b10. Sinauer, Sunderland, USA.
- Thiv, M., Struwe, L., Kadereit, J.W., 1999. The phylogenetic relationships and evolution of the Canarian laurel forest endemic *Ixanthus viscosus* (Aiton) Griseb. (Gentianaceae): evidence from matK and ITS sequences, and floral morphology and anatomy. *Plant Syst. Evol.* 218, 299–317.
- Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D.G., 1997. The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 25, 4876–4882.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., Taylor, J., 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfund, D.H., Sninsky, J.J., White, T.J. (Eds.), *PCR protocols: a guide to methods and amplifications*, Academic Press, San Diego, California, USA, pp. 315–322.
- Wiens, J.J., 2004. The role of morphological data in phylogeny reconstruction. *Syst. Biol.* 53, 653–661.
- Yuan, Y.-M., Kupfer, P., 1995. Molecular phylogenetics of the subtribe Gentianinae (Gentianaceae) inferred from the sequences of internal transcribed spacers (ITS) of nuclear ribosomal DNA. *Plant Syst. Evol.* 196, 207–226.
- Yuan, Y.-M., Wohlhauser, S., Möller, M., Chassot, P., Mansion, G., Grant, J., Kupfer, P., Klackenberg, J., 2003. Monophyly and relationships of the tribe Exaceae (Gentianaceae) inferred from nuclear ribosomal and chloroplast DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 28, 500–517.
- Zijlstra, G., Maas, P.J.M., Gandhi, K., 1999. On the nonexistence of *Lisyanthus* Aublet. *Harvard Pap. Bot.* 4, 289–292.

Tabela 1

Táxons e códigos de acesso ao GenBank para espécies utilizadas nesse estudo. Informações sobre "vouchers" fornecidas apenas para espécimes seqüenciados nesse estudo (indicados por "X"). * = amostras trabalhadas no Laboratório de Algas Marinhas "Édison José de Paula" (IBUSP). Nomes "informais" apresentados com aspas. Ref. 1: Presente estudo; Ref. 2: Thiv et al. (1999); Ref. 3: Mansion e Struwe (2004); Ref. 4: Struwe et al. (2009); Ref. 5: Frasier et al. (2008); Ref. 6: Chassot et al. (2001); Ref. 7: Yuan e Kupfer (1995); Ref. 8: Hagen e Kadereit (2001); Ref. 9: Chen et al. (2005); Ref. 10: Yuan et al. (2003); Ref. 11: Gould e Struwe (2004).

Taxon	Tribo	"Voucher"	Localidade	ITS	5S-NTS
<i>Centaurium maritimum</i> (L.) Fritsch	Chironeae			AJ011466, AJ011476 Ref. 2	
<i>Chironia linooides</i> L.	Chironeae			AY251692, AY251722 Ref. 3	
<i>Coutoubea spicata</i> Aubl.	Chironeae			EU709780 Ref. 4	
<i>Ixanthus viscosus</i> (Aiton) Griseb.	Chironeae			AJ011471, AJ011481 Ref. 3	
<i>Orphium frutescens</i> (L.) E. Mey.	Chironeae			AJ011465, AJ011475 Ref. 3	
<i>Sabatia angularis</i> (L.) Pursh	Chironeae			AJ011467, AJ011477 Ref. 3	
<i>Anthocleista amplexicaulis</i> Baker	Potalieae			DQ449914 Ref. 5	
<i>Enicostema verticillatum</i> (L.) Engl.	Potalieae			EU709781 Ref. 4	
<i>Fagraea berteriana</i> A. Gray ex Benth.	Potalieae			DQ449918 Ref. 5	
<i>Fagraea fragrans</i> Roxb.	Potalieae			AY251689, AY251719 Ref. 3	
<i>Lisianthus jefensis</i> A. Robyns & T.S. Elias	Potalieae			EU709782 Ref. 4	
<i>Lisianthus seemanii</i> (Griseb.) Kuntze	Potalieae			EU709783 Ref. 4	
<i>Potalia amara</i> Aubl.	Potalieae			DQ449919 Ref. 5	
<i>Bartonia virginica</i> (L.) Britton, Sterns, & Poggenb.	Gentianeae			AJ318533, AJ410312 Ref. 6	
<i>Crawfordia thibetica</i> Franch.	Gentianeae			Z48145, Z48123 Ref. 7	
<i>Gentiana lutea</i> L.	Gentianeae			Z48122, Z48119 Ref. 7	
<i>Gentianella amarella</i> (L.) Börner	Gentianeae			AJ580573 Ref. 4	
<i>Gentianopsis crinita</i> (Froel.) Ma	Gentianeae			AJ294631, AJ294691 Ref. 8	

<i>Halenia palmeri</i> A. Gray	Gentianeae			AJ29632, AJ294692 Ref. 8	
<i>Obolaria virginica</i> L.	Gentianeae			AJ318549, AJ410328 Ref. 6	
<i>Swertia perennis</i> L.	Gentianeae			AJ580550 Ref. 4	
<i>Tripterospermum volubile</i> (D. Don) Hara	Gentianeae			AY858667 Ref. 9	
<i>Adenolisianthus arboreus</i> Gilg	Helieae			EU709784 Ref. 4	
<i>Aripuana cullmaniorum</i> Struwe, Maas & V.A. Albert	Helieae			EU709785 Ref. 4	
" <i>Calolisianthus acutangulus</i> " (Mart.) Gilg	Helieae	Barbosa e Araújo 231 (SPF)	Brasil, Goiás,	X* Ref. 1	X* Ref. 1
" <i>Calolisianthus acutangulus</i> " (Mart.) Gilg	Helieae	Pereira-Silva et al. 7097 (SPF)	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus amplissimus</i> (Mart.) Gilg	Helieae	Calió e Sasaki 66 (SPF)	Brasil, São Paulo	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus amplissimus</i> (Mart.) Gilg	Helieae	Pereira-Silva et al. 7411 (SPF)	Brasil, Goiás	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus amplissimus</i> (Mart.) Gilg	Helieae	Romero et al. 926 (SPF)	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus pedunculatus</i> (Cham. & Schltld.) Gilg	Helieae			Ref. 1 EU709786 Ref. 4	
<i>Calolisianthus pedunculatus</i> (Cham. & Schltld.) Gilg	Helieae	Calió et al. 15 (SPF)	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus pedunculatus</i> (Cham. & Schltld.) Gilg	Helieae	Farinaccio et al. 621 (SPF)	Brasil, Paraná	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus pedunculatus</i> (Cham. & Schltld.) Gilg	Helieae	Loeuille et al. 339 (SPF)	Brasil, Bahia	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus pedunculatus</i> (Cham. & Schltld.) Gilg	Helieae	Lovo et al. 145 (SPF)	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus pedunculatus</i> (Cham. & Schltld.) Gilg	Helieae	Mello-Silva e Forzza 2797 (SPF)	Brasil, Bahia	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus pedunculatus</i> (Cham. & Schltld.) Gilg	Helieae	Pirani et al. 5393 (SPF)	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus pedunculatus</i> (Cham. & Schltld.) Gilg	Helieae	Trovó e Watanabe 361 (SPF)	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus pendulus</i> (Mart.) Gilg	Helieae	Calió et al. 86 (SPF)	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus pendulus</i> (Mart.) Gilg	Helieae	Mello-Silva e Ferreira 2848 (SPF)	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus speciosus</i> (Cham. & Schltld.) Gilg	Helieae	Calió et al. 51 (SPF)	Brasil, Goiás	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus speciosus</i> (Cham. & Schltld.) Gilg	Helieae	Calió et al. 106 (SPF)	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus speciosus</i> (Cham. & Schltld.) Gilg	Helieae	Calió et al. 125 (SPF)	Brasil, Bahia	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus speciosus</i> (Cham. & Schltld.) Gilg	Helieae	Trovó et al. 415 (SPF)	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	X* Ref. 1

<i>Calolisianthus speciosus</i> Gilg	Helieae			EU709787 Ref. 4	
<i>Calolisianthus</i> sp. ined.	Helieae	Calió et al. 87 (SPF)	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Calolisianthus</i> sp. ined.	Helieae	Bezerra et al. 46 (SPF)	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Chelonanthus acutangulus</i> (Ruiz et Pav.) Gilg	Helieae	Gomez et al. 837 (MO)	Colômbia, Antioquia	X Ref. 1	X Ref. 1
<i>Chelonanthus acutangulus</i> (Ruiz et Pav.) Gilg	Helieae	Hawkes et al. 5048 (MO)	Bolívia	X (ITS 1) Ref. 1	X Ref. 1
<i>Chelonanthus alatus</i> (Aubl.) Pulle	Helieae	Maas 9316 (U)	Guiana Francesa	X Ref. 1	X Ref. 1
<i>Chelonanthus alatus</i> (Aubl.) Pulle	Helieae	Berry 5541 (NY)	Venezuela, Bolívar	EU709790 Ref. 4	X Ref. 1
<i>Chelonanthus albus</i> (Spruce ex Progel) V.M. Badillo	Helieae	Poole 2049 (NY)	Brasil, Amazonas	EU709789 Ref. 4	X Ref. 1
<i>Chelonanthus angustifolius</i> (Kunth) Gilg	Helieae	Molina 18S364 (US)	Brasil, Amazonas	X Ref. 1	X Ref. 1
<i>Chelonanthus angustifolius</i> (Kunth) Gilg	Helieae	Alencar 621 (US)	Colômbia, Santander	X (ITS 2) Ref. 1	X Ref. 1
<i>Chelonanthus grandiflorus</i> (Aubl.) Chodat et Hassl.	Helieae	Kelloff et al. 598 (US)	Guiana	X Ref. 1	X Ref. 1
<i>Chelonanthus grandiflorus</i> (Aubl.) Chodat et Hassl.	Helieae			EU709788 Ref. 4	
<i>Chelonanthus grandiflorus</i> (Aubl.) Chodat et Hassl.	Helieae	Mori et al. 25561 (NY)	Guiana Francesa	X Ref. 1	X Ref. 1
<i>Chelonanthus matogrossensis</i> (J.M.G. Pers. et Maas) Struwe et V.A. Albert	Helieae	Solomon 7880 (NY)	Bolívia	X (ITS 2) Ref. 1	X Ref. 1
<i>Chelonanthus purpurascens</i> (Aubl.) Struwe, S. Nilsson et V.A. Albert	Helieae	Calió et al. 119 (SPF)	Brasil, Bahia	X* Ref. 1	
<i>Chelonanthus purpurascens</i> (Aubl.) Struwe, S. Nilsson et V.A. Albert	Helieae			EU709791 Ref. 4	
<i>Chelonanthus purpurascens</i> (Aubl.) Struwe, S. Nilsson et V.A. Albert	Helieae	Maas 7456 (US)	Guiana	X Ref. 1	X Ref. 1
<i>Chelonanthus purpurascens</i> (Aubl.) Struwe, S. Nilsson et V.A. Albert	Helieae	Harley 15889 (US)	Brasil, Bahia	X Ref. 1	X Ref. 1
<i>Chelonanthus viridiflorus</i> (Mart.) Gilg	Helieae	Calió et al. 84 (CHRB)	Brasil, Minas Gerais	X (ITS 2) Ref. 1	X Ref. 1
<i>Chelonanthus viridiflorus</i> (Mart.) Gilg	Helieae	Calió et al. 157	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	
<i>Chelonanthus viridiflorus</i> (Mart.) Gilg	Helieae	Chatrou 321 (U)	Bolívia	X Ref. 1	X Ref. 1
<i>Chelonanthus viridiflorus</i> (Mart.) Gilg	Helieae			EU709792 Ref. 4	
<i>Chelonanthus</i> sp. ined. 2	Helieae	Vargas 454 (NY)	Costa Rica	X Ref. 1	X Ref. 1
<i>Chorisepalum psychotrioides</i> Ewan	Helieae			EU709793 Ref. 4	
<i>Helia brevifolia</i> Cham.	Helieae	Calió et al. 168 (SPF)	Brasil, São Paulo	X* Ref. 1	X* Ref. 1

<i>Helia brevifolia</i> Cham.	Helieae	Serafim et al. 27 (SPF)	Brasil, São Paulo	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Helia brevifolia</i> Cham.	Helieae	Trovó et al. 316 (SPF)	Brasil, São Paulo	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Helia oblongifolia</i> Mart.	Helieae	Calió et al. 205 (SPF)	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Helia oblongifolia</i> Mart.	Helieae	Irwin et al. 21805 (NY)	Brasil, Minas Gerais	X Ref. 1	X Ref. 1
<i>Helia oblongifolia</i> Mart.	Helieae	Harley et al. 25924 (NY)	Brasil, Bahia	X* Ref. 1	X Ref. 1
<i>Helia oblongifolia</i> Mart.	Helieae			EU709794 Ref. 4	
<i>Iribachia nemorosa</i> (Willd. ex Roem. & Schult.) Merr.	Helieae			EU709795 Ref. 4	
<i>Iribachia poeppigii</i> (Griseb.) L. Cobb & Maas	Helieae			EU709796 Ref. 4	
<i>Iribachia pratensis</i> (Kunth) L. Cobb & Maas	Helieae	Berry 7579 (NY)		EU709797 Ref. 4	X Ref. 1
<i>Iribachia pumila</i> (Benth.) Maguire	Helieae			EU709798 Ref. 4	
<i>Macrocarpaea angelliae</i> J.R. Grant & Struwe	Helieae			AY397760, AY397761 Ref. 3	
<i>Macrocarpaea apparata</i> J.R. Grant & Struwe	Helieae			DQ401413 Ref. 4	
<i>Macrocarpaea domingensis</i> Urb. & Ekman	Helieae			EU709799 Ref. 4	
<i>Macrocarpaea gattaca</i> J.R. Grant	Helieae			DQ401414 Ref. 4	
<i>Macrocarpaea macrophylla</i> Gilg	Helieae			AJ489915 Ref. 10	
<i>Macrocarpaea rubra</i> Malme	Helieae	Calió et al. 169	Brasil, São Paulo	X* Ref. 1	
<i>Prepusa montana</i> Mart.	Helieae	Calió et al. 116	Brasil, Bahia	X* Ref. 1	
<i>Prepusa montana</i> Mart.	Helieae			EU709805 Ref. 4	
<i>Purdieanthus pulcher</i> (Hook.) Gilg	Helieae			EU709800 Ref. 4	
<i>Rogersonanthus quelchii</i> (N.E.Br.) Maguire & B.M. Boom	Helieae	Fiaschi e Plunkett 3192 (SPF)	Venezuela, Bolívar	X* Ref. 1	
<i>Symbolanthus australis</i> Struwe	Helieae	Dorr et al. 6691 (NY)		EU709801 Ref. 4	X Ref. 1
<i>Symbolanthus frigidus</i> (Sw.) Struwe & K. Gould	Helieae			EU709802 Ref. 4	AY143370 Ref. 11
<i>Symbolanthus nerioides</i> (Griseb.) Ewan	Helieae	Sobel e Strudwick 2164 (NY)	Venezuela, Mérida	X Ref. 1	AY143377 Ref. 11
<i>Symbolanthus pulcherrimus</i> Gilg	Helieae			EU709803 Ref. 4	AY143379 Ref. 11
<i>Tachia grandiflora</i> Maguire & Weaver	Helieae			DQ401415 Ref. 4	

<i>Tachia guianensis</i> Aubl.	Helieae			DQ401419 Ref. 4	
<i>Tachia loretensis</i> Maguire & Weaver	Helieae			DQ401421 Ref. 4	
<i>Tachia occidentalis</i> Maguire & Weaver	Helieae			DQ401423 Ref. 4	
<i>Tachia parviflora</i> Maguire & Weaver	Helieae			DQ401424 Ref. 4	
<i>Tetrapollinia caerulescens</i> (Aubl.) Maguire & B.M. Boom	Helieae	Calió et al. 154 (SPF)	Brasil, Minas Gerais	X* Ref. 1	X* Ref. 1
<i>Tetrapollinia caerulescens</i> (Aubl.) Maguire & B.M. Boom	Helieae	Irwin 34170 (NY)	Brasil, Goiás	X (ITS 2) Ref. 1	X Ref. 1
<i>Tetrapollinia caerulescens</i> (Aubl.) Maguire & B.M. Boom	Helieae			EU709804 Ref. 4	

Tabela 2

Nome das matrizes e respectivos conjuntos de dados e de táxons; tipo de sistema de busca empregado nas análises; número de árvores retidas e utilizadas para construção da árvore de consenso estrito na análise de parcimônia.

Nome da matriz	Conjunto de dados	Conjunto de táxons	Sistema de busca	Árvores retidas	Árvores usadas
Morfologia	Morfologia	Todos	B	910	200000
ITS sem indels	ITS (sem indels)	Com ITS	B	9350	200000
ITS com indels	ITS (com indels)	Com ITS	B	8000	200000
5S-NTS sem indels	5S-NTS (sem indels)	Com 5S-NTS	A	1194	1194
5S-NTS com indel	5S-NTS (com indel)	Com 5S-NTS	A	4759	4759
Combinada molecular pequena sem indels	ITS + 5S-NTS (sem indels)	Com dados para ambos os conjuntos moleculares	A	1897	1897
Combinada molecular pequena com indels	ITS + 5S-NTS (com indels)	Com dados para ambos os conjuntos moleculares	A	548	548
Combinada molecular média sem indels	ITS + 5S-NTS (sem indels)	Com dados para ao menos um conjunto molecular	B	9400	200000
Combinada molecular média com indels	ITS + 5S-NTS (com indels)	Com dados para ao menos um conjunto molecular	B	8110	200000
Combinada total pequena sem indels	ITS + 5S-NTS + morfologia (sem indels)	Com dados para ambos os conjuntos moleculares	A	385	385
Combinada total pequena com indels	ITS + 5S-NTS + morfologia (com indels)	Com dados para ambos os conjuntos moleculares	A	216	216
Combinada total média sem indels	ITS + 5S-NTS + morfologia (sem indels)	Com dados para ao menos um conjunto molecular	B	7670	200000
Combinada total média com indels	ITS + 5S-NTS + morfologia (com indels)	Com dados para ao menos um conjunto molecular	B	7020	200000
Combinada total grande sem indels	ITS + 5S-NTS + morfologia (sem indels)	Todos	B	7000	200000
Combinada total grande com indels	ITS + 5S-NTS + morfologia (com indels)	Todos	B	5730	200000

Tabela 3

Características das matrizes individuais e combinadas: número de táxons, caracteres totais, *indels*, caracteres constantes e variáveis, e caracteres informativos para parcimônia. Estatísticas das árvores resultantes: comprimento das árvores, CI, RI, HI, número de nós com valores de probabilidade posterior de análise Bayesiana maiores que 0.85 (topologia da parcimônia / topologia da Bayesiana).

Conjuntos de dados	Táxons	Caracteres totais	<i>Indels</i>	Caracteres constantes	Caracteres variáveis	Caracteres informativos	Comprimento da árvore	CI	RI	HI	Nós (PP ≥ 0.85)
Morfologia	108	126	0	0 (0%)	126 (100%)	123 (98%)	619	0.271	0.756	0.729	28 / 31
ITS sem <i>indels</i>	100	676	0	264 (39%)	412 (61%)	326 (48%)	1624	0.444	0.769	0.556	54 / 56
ITS com <i>indels</i>	100	731	55	264 (36%)	467 (64%)	381 (52%)	1730	0.449	0.773	0.551	54 / 58
5S-NTS sem <i>indels</i>	47	327	0	56 (17%)	271 (83%)	245 (75%)	792	0.622	0.864	0.378	28 / 28
5S-NTS com <i>indels</i>	47	354	27	56 (16%)	298 (84%)	272 (77%)	849	0.612	0.864	0.388	27 / 27
Combinada Molecular Pequena sem <i>indels</i>	47	1003	0	555 (55%)	448 (45%)	372 (37%)	1084	0.649	0.872	0.351	–
Combinada Molecular Pequena com <i>indels</i>	47	1085	82	596 (55%)	489 (45%)	411 (38%)	1158	0.642	0.872	0.358	–
Combinada Molecular Média sem <i>indels</i>	100	1003	0	320 (32%)	683 (68%)	571 (57%)	2432	0.499	0.801	0.501	–
Combinada Molecular Média com <i>indels</i>	100	1085	82	320 (29%)	765 (71%)	653 (60%)	2594	0.500	0.804	0.500	–
Combinada Total Pequena sem <i>indels</i>	47	1129	0	626 (55%)	503 (45%)	421 (37%)	1194	0.637	0.868	0.553	32 / 34
Combinada Total Pequena com <i>indels</i>	47	1211	82	667 (55%)	544 (45%)	460 (38%)	1268	0.632	0.869	0.368	33 / 35
Combinada Total Média sem <i>indels</i>	100	1129	0	320 (28%)	809 (72%)	692 (61%)	3079	0.449	0.783	0.551	65 / 72
Combinada Total Média com <i>indels</i>	100	1211	82	320 (26%)	891 (74%)	774 (64%)	3238	0.452	0.787	0.548	69 / 74
Combinada Total Grande sem <i>indels</i>	108	1129	0	320 (28%)	809 (72%)	694 (61%)	3119	0.443	0.782	0.557	63 / 71
Combinada Total Grande com <i>indels</i>	108	1211	82	320 (26%)	891 (74%)	776 (64%)	3279	0.446	0.786	0.554	65 / 72



Fig. 2. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Média com *indels*", i.e., incluindo dados morfológicos e moleculares, e apenas táxons com dados para ao menos uma das partições moleculares. Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.

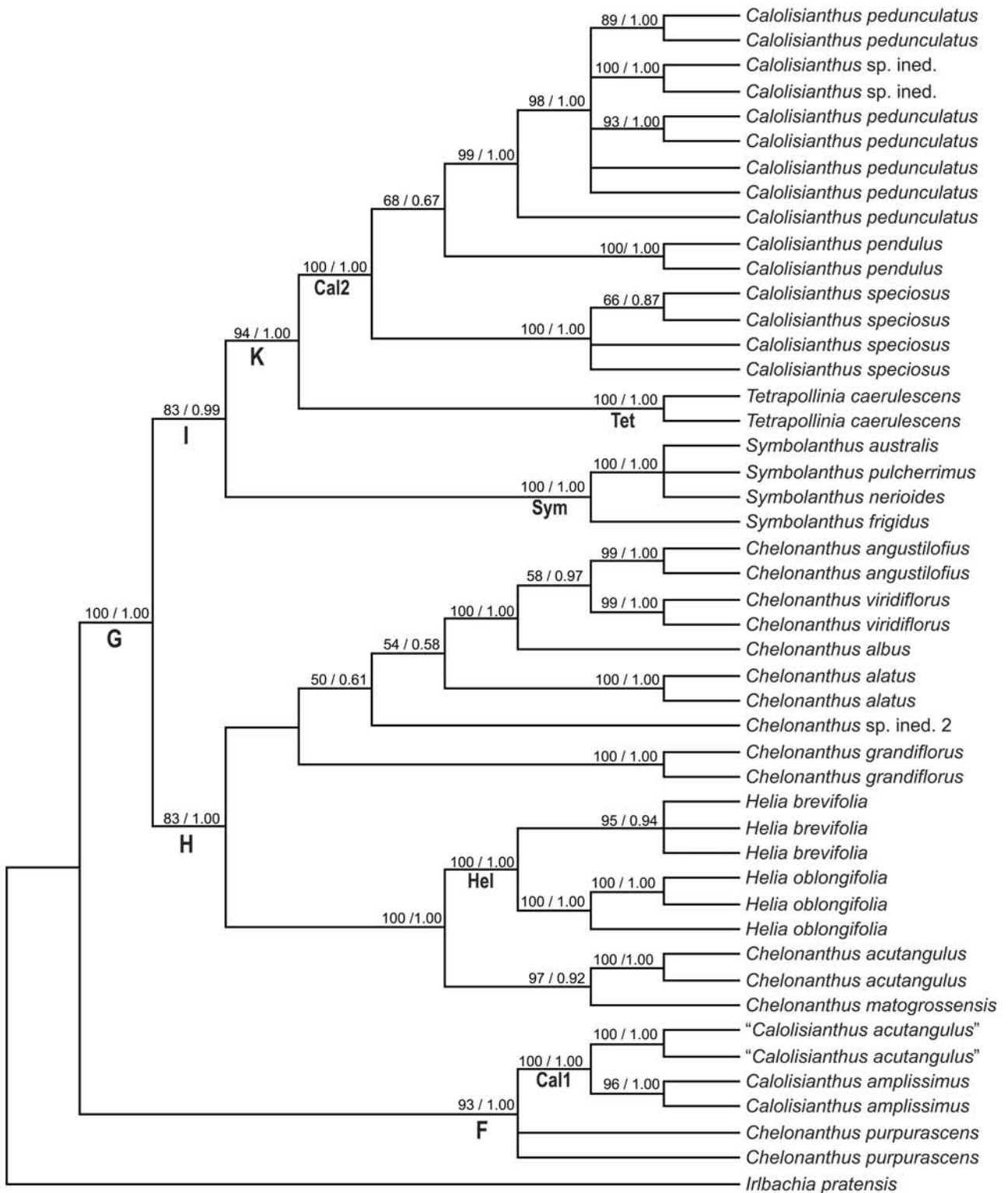


Fig. 3. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Pequena com *indels*", i.e., incluindo dados morfológicos e moleculares, e apenas táxons com dados para as três partições. Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.

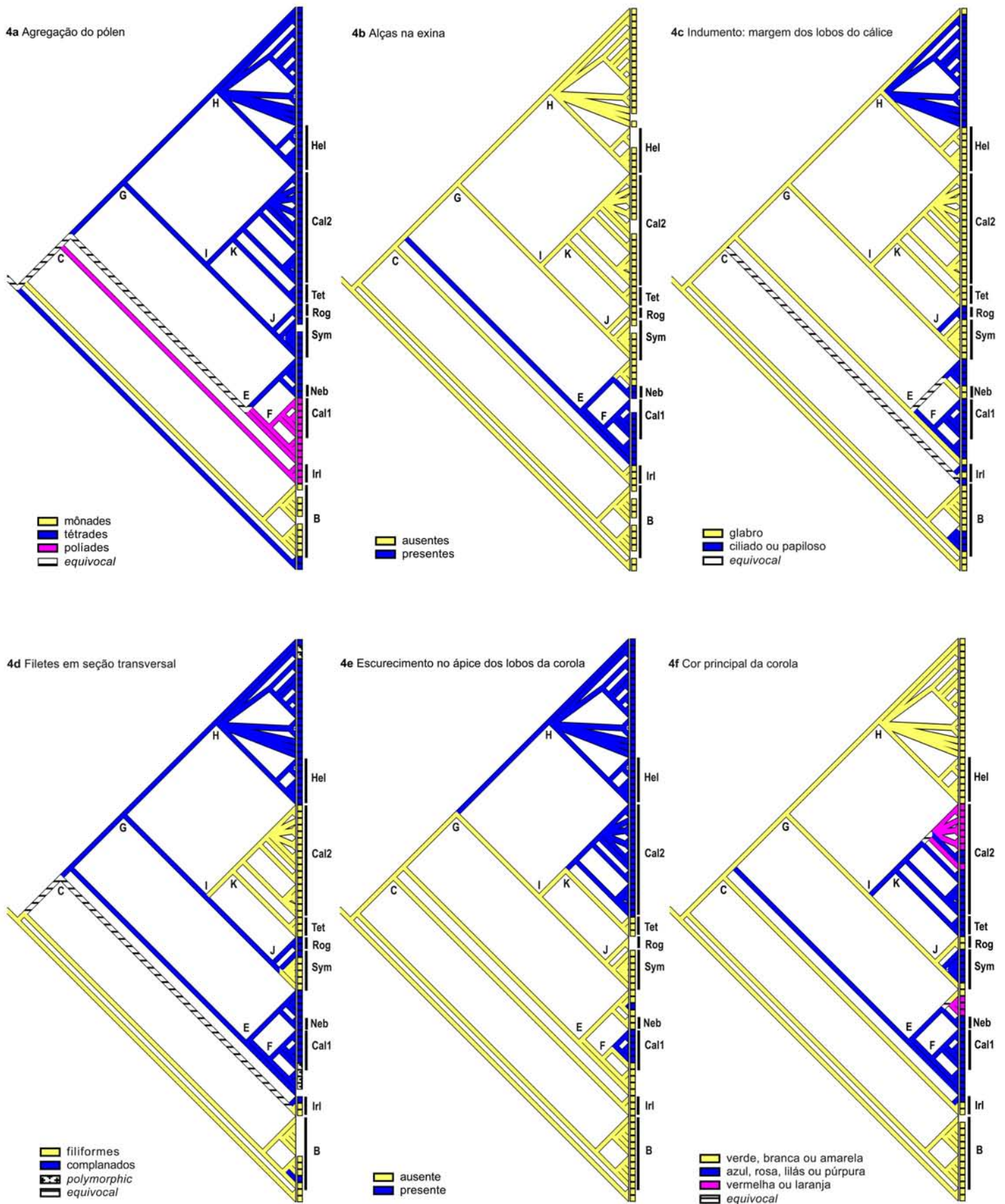


Fig. 4. Seis caracteres morfológicos mapeados sobre a filogenia de Helieae obtida com a análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Grande com *indels*" (táxons dos grupos-externos foram removidos). Lista de caracteres morfológicos e matriz com codificações são encontradas nos Apêndices A e B. (a) Agregação dos grãos de pólen (car. 88), (b) Alças na exina (car. 91), (c) Indumento na margem dos lobos do cálice (car. 39), (d) Filetes em seção transversal (car. 69), (e) Região escurecida no ápice dos lobos da corola (car. 57), (f) cor principal da corola (car. 44).

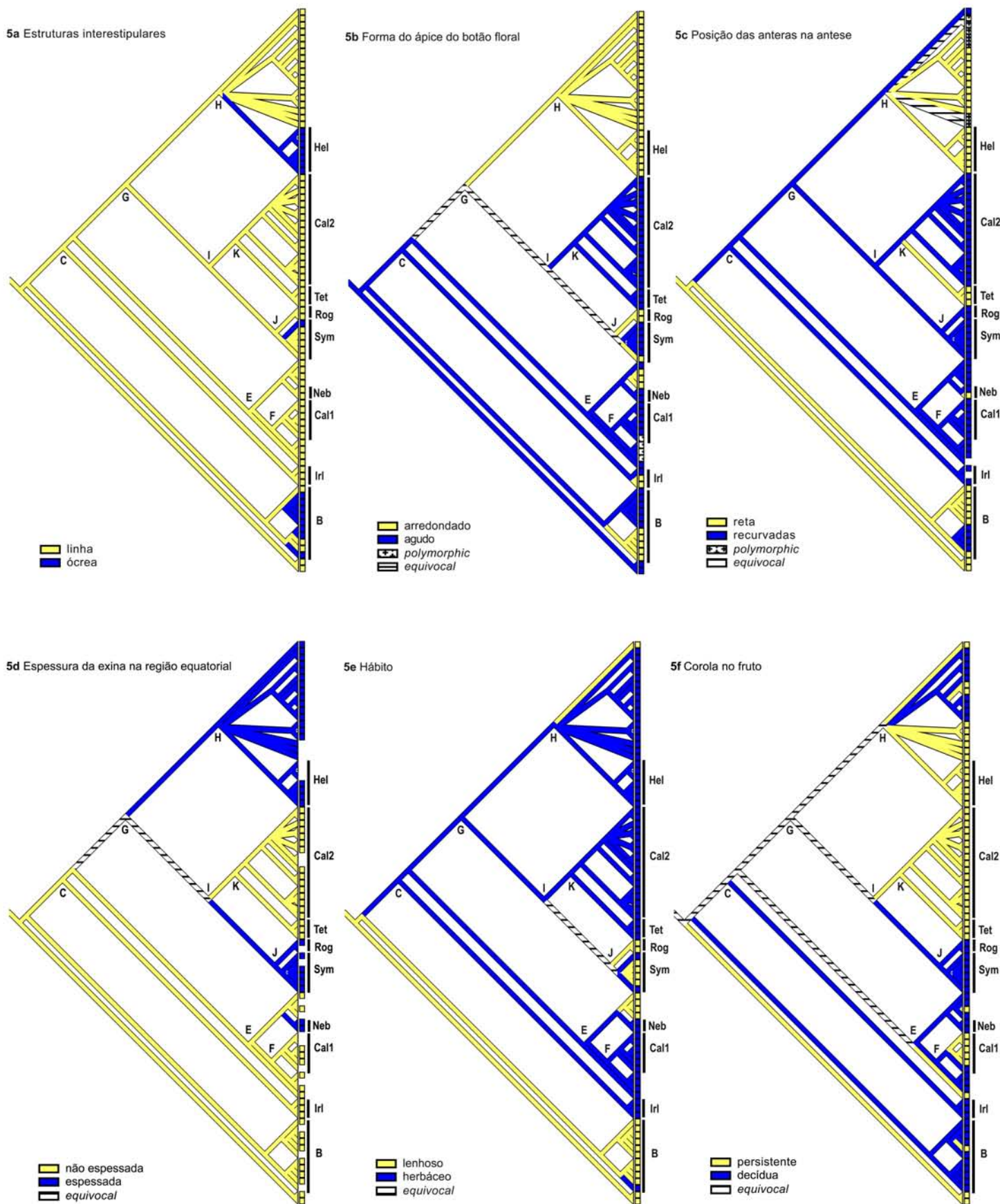


Fig. 5. Seis caracteres morfológicos mapeados sobre a filogenia de Helieae obtida com a análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Grande com *indels*" (táxons dos grupos-externos foram removidos). Lista de caracteres morfológicos e matriz com codificações são encontradas nos Apêndices A e B. (a) Estruturas interestipulares (car. 20), (b) Forma do ápice do botão floral (car. 55), (c) Posição das anteras na antese (car. 70), (d) Espessura da exina na região equatorial (car. 91), (e) Hábito (car. 1), (f) Corola no fruto (car. 53).

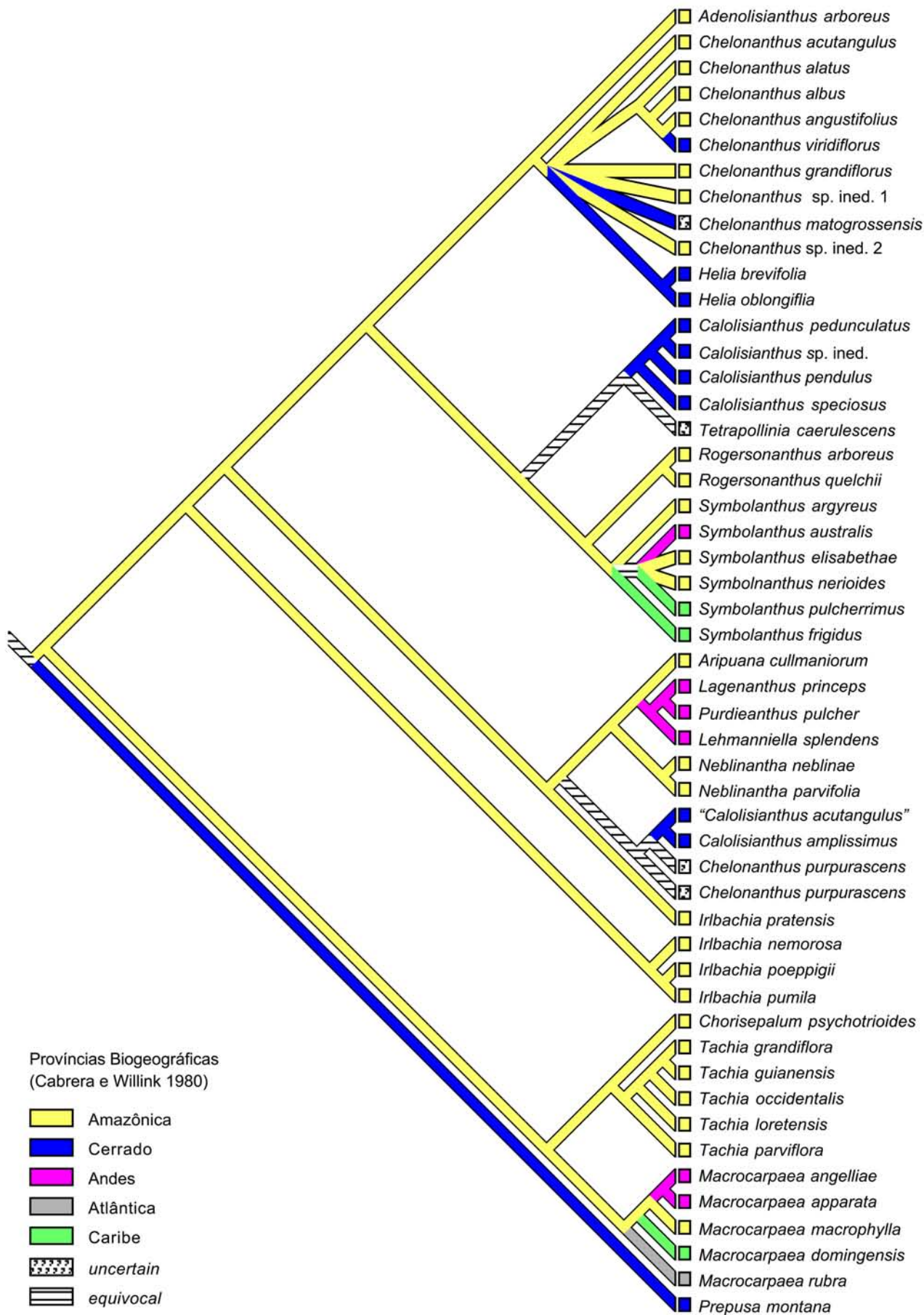


Fig. 6. Mapeamento das áreas geográficas onde ocorrem as espécies amostradas de Helieae, codificadas de acordo as Provincias Biogeográficas *sensu* Cabrera e Willink (1980). Árvore modificada com base na topologia obtida com a análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Grande com indels" (táxons dos grupos-externos foram removidos). Nomes informais entre aspas.

Apêndice A

Caracteres morfológicos e respectivos estados utilizados nesse estudo. Detalhes sobre os caracteres em Struwe et al. (2009).

1. Hábito: lenhoso (0); herbáceo (às vezes lenhoso na base) (1). Ervas subarborescentes foram codificadas como herbáceas, e o hábito lenhoso foi restringido a plantas com crescimento secundário presente também nos ramos.
2. Saprófitas: não (0); sim (1).
3. Caule: ereto (0); volúvel (1).
4. Cor do caule: verde-amarronzada (0); branca, amarela ou laranja (1); vermelha ou purpúrea (2).
5. Resina nos nós: ausente (0); presente (1).
6. Posição das folhas na base: igualmente distribuídas (0); agrupadas em roseta basal (1).
7. Posição das folhas no ápice dos ramos: igualmente distribuídas (0); agrupadas no ápice (1).
8. Ramos jovens: glabros (0); pilosos, pubescentes (1); híspidos (2); papilosos (3).
9. Indumento papiloso nas partes vegetativas: ausente (0); presente (1).
10. Indumento híspido nas partes vegetativas: ausente (0); presente (1).
11. Margem da folha: inteira (0); crenulada (1); denteada (2).
12. Indumento na face abaxial das folhas: ausente (0); presente (1).
13. Pequenos tricomas na margem das folhas: ausentes (0); presentes (1).
14. Margem da folha: com a mesma textura e cor do restante do limbo (0); delgada, sem cor e membranácea (hialina)(1).
15. Margem da folha: não espessada (0); espessada (1).
16. Margem da folha: plana (0); revoluta (1).
17. Pecíolo: presente, distinto (0); ausente ou indistinto (folhas sésseis) (1). Em folhas com base atenuada, esse caráter pode ser difícil de codificar. Por essa razão, baseamos a codificação no fato da lâmina alcançar ou não a base da folha (i.e. folhas com pecíolos alados seriam codificadas como “pecíolo ausente” se a ala alcançasse a base da folha).
18. Invaginação da nervura central: ausente (0); presente (1).
19. Base da folha: livre (0); conata (1).
20. Estruturas interestipulares: linha (0); ócrea (1). A diferença entre linha e ócrea é que a primeira é apenas uma área com uma cicatriz, enquanto a segunda é um tecido que envolve parcialmente o caule.
21. Número de pares de nervuras secundárias: 0 (0); 1-2 (1); 3 ou mais (2).
22. Curso do par basal de nervuras secundárias: reto (0); curvado em direção ao ápice (1).

23. Nervuras secundárias na face abaxial: não proeminentes (0); proeminentes (1).
24. Posição da inflorescência: terminal (0); axilar (1).
25. Tipo de inflorescência: cimosa (com flor apical) (0); racemosa (sem flor apical, inclui tirso) (1).
26. Número de flores: 2 ou mais por inflorescência (0); solitárias (1).
27. Indumento nos ramos da inflorescência: glabro (0); piloso (1); hispido ou papiloso (2); tuberculado (3).
28. Fusão basal dos ramos da inflorescência: não fundido (0); fundido (1).
29. Bractéolas: presentes (0); ausentes (1).
30. Forma e estrutura das bractéolas: triangular, escamiforme (0); foliácea (1). Bractéolas referem-se às estruturas abaixo de cada flor.
31. Orientação da flor na antese: ereta a horizontal (0); nutante (pedicelo curvado 180 graus) (1).
32. Merisma do cálice: 5 (0); 4 (1); 2 (2); 6-7 (3).
33. Cor do cálice: verde (0); branca, amarela, laranja (1); vermelha, purpúrea, azul (2).
34. Posição das sépalas: em 1 verticilo (0); em 2 verticilos (decussado) (1).
35. Espessamento na região dorsal dos lobos do cálice: ausente (0); presente (1).
36. Apêndices na região dorsal dos lobos do cálice: ausentes (0); carenados (1); alados, 1 ala (2); alados, 2 alas (3).
37. Área glandular na região dorsal dos lobos do cálice: ausente (0); presente (1).
38. Margem dos lobos do cálice: cartácea (0); membranácea, hialina (1).
39. Indumento na margem dos lobos do cálice: glabro (0); ciliado ou papiloso (1).
40. Indumento na face dorsal dos lobos do cálice: glabro (0); piloso (1).
41. Cálice no fruto: persistente (0); decíduo (1).
42. Textura do cálice: membranácea, papirácea (0); coriácea, lenhoso (1).
43. Merisma da corola: 5 (0); 4 (1); 6-7 (2); 8 ou mais (3).
44. Cor principal da corola: verde, branca ou amarela (0); azul, rosa, lilás ou púrpura (1); vermelha ou laranja (2).
45. Forma do tubo da corola acima do ponto de inserção dos estames: não inflada (0); inflada (1).
46. Constrição da corola na fauce: ausente (0); presente (corola com forma de balão) (1).
47. Forma do tubo da corola na região abaxial: simétrica, sem giba (0); assimétrica, com giba (1).
48. Indumento no exterior da corola: glabro (0); papiloso (1).
49. Plicas na corola: ausentes (0); presentes (1).
50. Indumento no interior da corola: ausente (0); presente (1).
51. Glândulas no interior da corola: ausentes (0); presentes (1).

52. Textura da corola: não carnosa, delgada (0); carnosa ou coriácea, espessa (1).
53. Corola no fruto: persistente (0); decídua (1).
54. Apêndices apicais nos lobos da corola: ausentes (0); presentes (1).
55. Forma do ápice do botão floral: arredondado (0); agudo (1).
56. Estivação da corola: contorta (0); valvar-contorta (1); imbricada (2).
57. Região escurecida no ápice do lobo da corola: ausente (0); presente (1).
58. Indumento na margem do lobo da corola: glabro (0); fimbriado (1); ciliado ou papiloso (2).
59. Inserção dos estames no tubo da corola: distante dos lobos (0); entre os lobos (1); muito próximo dos lobos (2).
60. Comprimento dos filetes: isodínamos (0); heterodínamos (1).
61. Simetria do androceu: estames dispostos radialmente em relação à fauce (0); estames agrupados na porção basal da fauce (1).
62. Base dos filetes: livre (0); inserido sobre uma base carnosa, sem anel (1); inserido em anel carnoso ou com apêndices estaminais basais (2).
63. Lacunas estaminais: ausentes (0); presentes (1).
64. Corona: ausente (0); presente (1).
65. Base dos filetes: não alada (0); alada (1).
66. Interior do tubo da corola abaixo da região de inserção dos estames: não alado (0); alado ou costado (1).
67. Inserção do filete em relação à corola: não curvado, paralelo ao tubo (0); curvado em 90 graus, perpendicular ao tubo (1).
68. Angulação dos filetes próximo às anteras: não curvados (0); curvados 180-360 graus (1).
69. Filetes em seção transversal: filiformes (0); complanados (1).
70. Posição das anteras na antese: retas (0); recurvadas (1); espiraladas ao longo do comprimento (2); dobradas para trás, versáteis (3).
71. Apículo estéril no ápice da antera: ausente (0); presente (1).
72. Disco ou tecido nectarífero na base do ovário: ausente (0); presente (1).
73. Posição do ovário: séssil (0); estipitado (1).
74. Persistência do estilete no fruto: persistente (0); decíduo (às vezes a base persiste) (1).
75. Forma do estilete: delgado e longo (0); largo e curto (1).
76. Seção transversal do estilete quando seco: filiforme (0); achatado e espiralado ao longo do seu comprimento (2).
77. Posição do estilete: reto (0); curvado em direção ao ápice (1).
78. Forma do estigma: bilamelado (0); obcônico-simples (1); capitado-peltado (2).
79. Forma do lobo do estigma: arredondado a elíptico (0); linear (1).
80. Posição dos frutos: ereta a horizontal (0); pêndula (1).

81. Tipo de deiscência do fruto: indeiscente (0); bivalvar, apical (1); 4-valvar (2); bivalvar, medial (3).
82. Valvas do fruto: persistentes (0); decíduas, sem deixar os traços vasculares secos (1); decíduas, com traços vasculares secos (2).
83. Textura do epicarpo fresco: delgado (0); carnoso (1); coriáceo (2).
84. Mesocarpo: sem separação (0); separando-se em uma parte externa delgada e uma parte interna fibrosa (1).
85. Cor do fruto maduro e fresco: castanha a bege (0); verde a amarela (1); vermelha a purpúrea (2).
86. Placenta em frutos maduros: inconspícua (0); cartácea, delgada (1); lenhosa, espessa (2); carnosa (3).
87. Forma da placenta: simples (0); peltada (1); intrusiva (2).
88. Agregação dos grãos de pólen quando liberados: mônades (0); tétrades (1); políades (2).
89. Abertura do pólen: colporado (0); porado (1).
90. Espículas na columela e muro: ausentes (0); presentes (1).
91. Alças na columela e muro: ausentes (0); presentes (1).
92. Espessura da exina na região equatorial: não espessada (0); espessada (1).
93. Espessura da exina na região polar: não espessada (0); espessada (1).
94. Processos especiais na região polar: nenhum (0); glóbulos (1); espícula (2).
95. Margem dos poros: lamelar espessada (0); lamelar não espessada (1); protuberante (2); intrusiva (3).
96. Perfuração nas paredes internas em tétrades e políades: ausente (0); presente (1).
97. Lúmen: liso (0); granuloso (1).
98. Teto: ausente (0); presente, inteiro (1); presente, perfurado (2).
99. Macro-glóbulos na columela e muro: ausentes (0); presentes (1).
100. Micro-glóbulos na columela e muro: ausentes (0); presentes (1).
101. Processos alongados na columela e muro: ausentes (0); presentes (1).
102. Processos curtos na columela e muro: ausentes (0); presentes (1).
103. Espessamento do muro: uniforme (0); desigual (1).
104. Muro: liso (0); granular (1); carenado (2); não fundido (3).
105. Tamanho das aberturas no retículo: iguais (0); maiores na região polar (1); maiores na região equatorial (2).
106. Padrão do teto/columela: reticulado (0); escabro a verrucoso (1); estriado (2).
107. Retículo: finamente reticulado, estriado (0); grosseiramente reticulado (1); irregularmente reticulado (2).
108. Forma da semente: angular, poliédrica (0); globosa, subglobosa, elíptica (1); comprimida (2).

109. Costelas na superfície da semente: ausentes (0); presentes (1).
110. Ala nas sementes: ausente (0); uma ala presente, contornando todos os lados da semente (1); várias alas presentes, parcialmente contornando um ou mais (mas não todos) os lados da semente (2).
111. Hilo: indistinto (0); distinto (1).
112. Forma das células da testa: poligonais (0); alongadas (1).
113. Forma da parede externa da testa: côncava (0); convexa (1).
114. Espessamentos em faixas na parede externa da testa: ausentes (0); presentes (1).
115. Forma das paredes anticlinais da testa: retas (a levemente curvadas) (0); curvadas a em forma de S (1); ondulada a em zigue-zague (2).
116. Espessura geral da testa nas paredes anticlinais: delgada (0); espessa (1).
117. Forma dos limites das paredes anticlinais da testa: reta (0); convexa (1); côncava (2).
118. Espessamentos em faixas nas paredes anticlinais da testa: ausentes (0); presentes (1).
119. Papilas ou grânulos na parede anticlinal da testa: ausentes (0); presentes (1).
120. Poros na parede anticlinal da testa: ausentes (0); presentes (1).
121. Retículo na parede anticlinal da testa: ausente (0); presente (1).
122. Espessamentos na parede interna da testa: ausentes (0); presentes (1).
123. Estrutura da parede interna da testa: lisa (0); com poros (1).
124. Papilas ou grânulos na parede interna da testa: ausentes (0); presentes (1).
125. Retículo na parede interna da testa: ausente (0); presente (1).
126. Grânulos na cutícula: ausentes (0); presentes (1).

Apêndice B

Matriz de dados morfológicos empregada nas análises filogenéticas. Táxons com nomes informais estão indicados entre aspas. Na matriz, táxons polimórficos foram representados com letras: a = 0/1; b = 1/2; c = 0/2; d = 0/1/2; ? = dados ausentes.

Táxon	Número do caráter													
	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000001	111111111	111111111	111111
	000000001	111111112	222222223	333333334	444444445	555555556	666666667	777777778	888888889	999999990	000000001	111111112	222222	
	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	123456
<i>Centaureum maritimum</i>	1000010000	0000001000	??00000001	0000010?00	0000000000	0000000020	00001000?2	0000000000	1000002000	0000??2000	00??2?100	0000?0?001	101110	
<i>Chironia linoides</i>	1000000101	0110001000	1100001001	0000000011	0001000000	00?0000020	1000000001	010?00110?	??00??0000	0000??2000	0002020100	00000?1000	100101	
<i>Coutoubea spicata</i>	1000000000	0000000000	b100100000	0100010100	0010000000	0000100020	0000111000	0000001000	1000002110	0010??1000	0000101100	00001?000?	?01011	
<i>Ixanthus viscosus</i>	1000000000	0000001010	1100000001	0a00000010	10a0000000	0010100020	1000101001	00010?1200	1000022000	0000??2000	000?020100	00000?000?	?0??10	
<i>Orphium frutescens</i>	0000000100	0110001000	??00001001	0000000011	0001000000	0010000020	1000101012	0001001200	1000022000	0000??2000	0000020100	00000?1001	001101	
<i>Sabatia angularis</i>	1000000000	0000001010	1100000001	0a00000000	00a1000000	0000100020	0200100001	00010?0010	10000?0???	???????????	????????100	0000a?0001	101111	
<i>Anthocleista amplexicaulis</i>	0000101000	0000001000	2000000000	0101100000	0131000000	0110100000	0100100010	1101000200	0010132010	00002??200	00??1?200	1000a1?0??	?????0	
<i>Enicostema verticillatum</i>	1000000210	0101001000	1111010000	0000010110	0000000000	0010100200	0200100000	1001000200	1000012000	0?????0???	?????2?100	10000?000?	?00011	
<i>Fagraea berteriana</i>	0000101000	0000010000	2000000000	0000100000	0100000000	0110000000	0200000010	0101001000	00102320a0	00000?0000	0002000100	110001?0?1	?????0	
<i>Fagraea fragrans</i>	0000101000	0000010001	2001000000	0000000000	0100000000	0010000200	0000001010	0001000100	001023?000	00000?0000	00020c00?0	110001?0?1	?????0	
<i>Lisianthus jefensis</i>	0000001000	0000010000	1101000000	1000000000	0001110000	0000100200	0000010010	10010?0201	1000022000	0000??2000	00?0001100	00001?1010	000100	
<i>Lisianthus seemanni</i>	1000000000	0000001000	b110000001	1000010000	0000000000	0001100000	0000000000	0000010200	3000012000	0000??2000	00?0000100	00001?1010	000100	
<i>Potalia amara</i>	0001101000	0000001001	2000000000	0111100100	0130000000	0110000000	0100000010	1101000200	0010131010	00002??100	00??1?200	10000?0???	?????0	
<i>Bartonia virginica</i>	1102000000	0000001000	0??0000000	0100000000	0010000000	0000120010	0000100010	1000100000	1000000000	0000??2000	000?0000?0	0?00?00000	000000	
<i>Crawfordia thibetica</i>	0010000000	1000001000	1101?00000	1000000100	1001010010	0010100000	0000110010	011010001?	100?000000	0000??2000	0002020201	00001?????	?????0	
<i>Gentiana lutea</i>	1000000000	0000001010	110100000?	0000000100	0000?00000	0000100010	0000110010	0110100000	1000000000	0?00??2000	00??020201	01000?1100	000010	
<i>Gentianella amarella</i>	1002000000	0010001010	1100000001	0020000010	0001000000	1000100000	0000110013	0010100000	1000000000	0000??2000	0000020100	0000?0?000	00000a	
<i>Gentianopsis crinita</i>	1002000000	0010001000	1100000001	0120000000	0011000001	1000100100	0000110013	0010100000	1000000000	0000??1000	0003001200	01?00?0???	??1110	
<i>Halenia palmeri</i>	1000000000	0010001010	1100000001	0100000010	0010000000	1000100000	0000110013	0000100200	1000010000	0000??2000	00000c0100	0000?0?000	00000a	
<i>Obolaria virginica</i>	1102000000	0000001010	2001000001	0200000000	0011000000	1000120010	0000100010	0100100000	3000000000	0000??2000	0000000100	0000??2000	000000	
<i>Swertia perennis</i>	1002000000	00000010a0	1100000001	0020000000	0001000000	1000100010	0000100013	0010100200	1000010000	0000??2000	00??0?d00	0?00??????	??????	
<i>Tripterospermum volubile</i>	1010000000	1000000000	1101010000	1000020100	0000100010	0010100001	00001?0010	01111?1011	000023?000	0000??2000	0002020201	0000a?????	?????0	
<i>Adenolisanthus arboreus</i>	0000001000	0001001000	1100000000	0000101100	0100100000	0100001201	1010100011	1100011001	30000221a0	0110?00000	0010b02010	0?012?????	?????0	
<i>Aripuana cullmaniorum</i>	0000000000	0001010000	2000000000	0000101110	0100000000	0010110010	0100000011	1100010000	1000022100	0000??2000	0000001010	0011010?0?	?10?0?	
" <i>Calolisanthus acutangulus</i> "	1000000000	0001001000	11100a0000	0000101110	0101100000	0100101201	1000000111	1100011001	30000222??	???????????	?????????0?	???????????	??????	
<i>Calolisanthus amplissimus</i>	1000000000	0001001000	b1100a0000	0000101110	0101100000	0100101201	1000000111	1100011001	3000022200	1010110000	00001020?0	???????????	?????0	
<i>Calolisanthus pedunculatus</i>	1000000000	000100a000	b1100a0000	0000101100	0102100000	0100101001	1000000101	1100011001	3000022100	0010?10000	0000102010	0011???????	?????0	
<i>Calolisanthus pendulus</i>	1000000000	000100a000	11100a0000	0000101100	0101100000	0100101001	1000000101	1100011001	3000022100	0010?10000	0000102010	0?11???????	?????0	
<i>Calolisanthus speciosus</i>	1000000000	0001001000	b1100a0000	0000101100	0101100000	0100101001	1000000101	1100011001	3000022100	0010?10000	0000102010	0011??2???	?????0	

Táxon	Número do caráter												
	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	111111111	111111111	111111
	000000001	111111112	222222223	333333334	444444445	555555556	666666667	777777778	888888889	999999990	000000001	111111112	22222
	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	123456
<i>Calolisianthus</i> sp. ined.	100000000	000100100	11100a000	0000101100	0101100000	0100101001	100000101	1100011001	30000221??	??????????	?????????0	??????????	??????
<i>Chelonanthus acutangulus</i>	100000000	00010010a	b110000000	0000101110	010010a000	0110001201	10a00001aa	1100011001	3000022100	0100?1?000	1110b?2010	0000??????	??????
<i>Chelonanthus alatus</i>	100000000	00010010a	b110000000	0000101110	010010a000	0010001201	1000000a1a	110a011001	3000022100	0100?1?000	00101?2010	0001??????	??????
<i>Chelonanthus albus</i>	100000000	000100a000	b110000000	0000101110	0100?00000	0010001201	100000011a	110a011001	3000022100	0100?1?000	11102?2010	00a1??????	??????
<i>Chelolanthus angustifolius</i>	100000000	000100a000	1110000000	0000101110	0100?0a000	0000001201	1000000a10	110a011000	3000022100	0100?1?0aa	00?02?2010	00a1??????	??????
<i>Chelonanthus grandiflorus</i>	100000000	000100a0a0	b110000000	0000101110	010010a000	0100001201	10a0000110	1100011001	3000022100	0100?1?000	00100?2010	0001??????	??????
<i>Chelonanthul matogrossensis</i>	100000000	00010010a0	1110000000	0000101110	0100100000	0000001201	100000001a	110a011001	300002210?	?????1????	???????2010	0001??????	??????
<i>Chelonanthus purpurascens</i>	100000000	000100a000	1110000000	a000101110	0101100000	0a10a00201	10000001a1	110a011001	3000022210	1010?1?000	00100?2010	00a1??????	?????0
<i>Chelonanthus viridiflorus</i>	100000000	0001001000	1110000000	0000101110	0100101000	0010001201	1000000010	110a011000	3000022100	0110?1?0aa	0010??2010	00a1??????	?????0
<i>Chelonanthus</i> sp. ined. 1	100000000	00010010a0	1110000000	0000121110	0100100000	0000001201	1001000a10	1101011001	30000221?0	0??0???000	00102?2010	0001??????	??????
<i>Chelonanthus</i> sp. ined. 2	100000000	00010010a0	1110000000	0000101110	0100100000	0000001201	100000001a	110a010000	3000022100	0??0?1?000	00100?2010	00a1??????	??????
<i>Chorisepalum psychotrioides</i>	0000100000	0000100000	211a20001?	010110??00	112??00000	0011100000	0000?0?0?0	?0?0101000?	2201022000	0000??1000	0000001211	0011??????	?1?01?
<i>Helia brevifolia</i>	1000010000	0001001011	b1a0000000	0000101100	0100000000	0100001c01	00a0000110	1100011001	30000221??	??????????	?????????010	00110?2?0?	?00000
<i>Helia oblongifolia</i>	1000000000	0001001011	11a0000000	0000101100	0100000000	0100001c01	00a0000110	1100011001	30000221a0	0100??0200	0010202010	00110?2?0?	?00000
<i>Iribachia nemorosa</i>	1000000000	0000000000	1100000000	0000101110	0001000000	0010100201	10?0100111	1100011001	30000122?1	0012???000	0100100010	00112???0?	?01100
<i>Iribachia poeppigii</i>	1000000000	2000001000	1100000001	0000101100	0000000000	0010000000	10?010000?	0100011001	30000122?1	0012??1000	0100100100	00112?0?0?	?010?0
<i>Iribachia pratensis</i>	1000010000	0000011000	0??0000000	0000111100	0101000000	0000100?01	10?0?00???	1000011001	30000?22?1	1012?11000	01001000?0	00012???0?	?00100
<i>Iribachia pumila</i>	1000000000	0000001000	0??0000000	0000101110	0000000000	0010000200	10?0100001	010011100?	3000012211	0012???000	0100100100	00112???0?	?010?0
<i>Lagenanthus princeps</i>	0000000300	1001000000	110a?10000	1000111110	0102110101	0010000001	1000100111	1?01011001	300002?110	0?00310000	0000202010	0?111???0?	?00?00
<i>Lehmanniella splendens</i>	0000000000	0001000000	11000?0000	1000101110	0102110100	0010000201	0010100111	1?0001?0?1	3000022110	0?00310000	0000001010	00111?000?	?00100
<i>Macrocarpaea angelliae</i>	0000000000	0100010001	2110000001	0000101100	1100100000	0110000001	1000001101	1101011000	3201022000	00001?1000	0000001???	??????????	??????
<i>Macrocarpaea apparata</i>	0000000101	0100000101	2100001001	a000101111	1100100000	0110000001	1000001101	0101011000	3201022000	0000??1000	0000001012	00110?0???	?????0
<i>Macrocarpaea domingensis</i>	0000000000	0000010100	2100000001	0000101110	1100100000	0110000001	1000101111	1100011000	3201022010	0000??0000	0000000212	00100?0???	?????0
<i>Macrocarpaea gattaca</i>	0000000101	010000a100	2100001101	0000101000	1100100000	0110000001	1000001000	010001100a	3201022000	0000??1000	0000001010	0011??????	?????0
<i>Macrocarpaea macrophylla</i>	0000000101	0101000100	2110002101	0000101011	1100100000	0110000001	1000001?01	0101011000	3201022000	0000??1000	0000001010	001101??0?	?????0
<i>Macrocarpaea rubra</i>	1000000000	0000000001	2110000001	0000101100	1100010000	0110000c01	0000001000	0100011000	32010220??	??????????	??????????	??????????	??????
<i>Nebliantha neblinae</i>	1000000000	000?001000	1100?10001	100010?100	0001?00000	0010100201	?0?0100111	00000?0?01	?000022110	1100?00000	0000101010	00110?2???	?????0
<i>Nebliantha parvifolia</i>	1002000000	000?011000	1100?10001	002011?100	0001?00000	0010100001	?0?0100010	10010?0?00	?000022110	1100?00000	0000101???	??????????	??????
<i>Prepusa montana</i>	0000001000	0001011000	11a0000001	0310020000	0020100000	000010000a	1000000100	1100011001	10000221a0	0000000011	01??01?010	0000a?1000	000010
<i>Purdieanthus pulcher</i>	0000000310	0100000000	1100002000	1020101110	0102110100	0000001201	1000100011	1101010001	3000022110	00003?0001	0000202010	0?111?????	?00?00
<i>Rogersonanthus arboreus</i>	0000000000	0000010000	??00000000	0000101110	0100101000	011000?201	1010100111	1100011001	30000221a0	0110??010	0010102010	0011010???	?????0
<i>Rogesonanthus quelchii</i>	0000000000	0000011000	1110003000	0000101110	010010?000	011000?201	1010100111	1100011001	3000022100	0??????010	0010102010	0011010???	?????0
<i>Symbolanthus argyreus</i>	1000000000	0001011001	1100000000	0000101100	0101100000	0010100001	1010100111	1101011001	10000221a0	0100??0000	00??202???	??????????	??????
<i>Symbolanthus australis</i>	0000000000	0000000000	11000a0000	0000101100	0101100000	0110100001	1011000101	1101011001	1020022???	??????????	?????????10	0?????????	??????

Táxon	Número do caráter													
	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000001	111111111	111111111	111111
	000000001	111111112	222222223	333333334	444444445	555555556	666666667	777777778	888888889	999999990	000000001	111111112	222222	
	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	1234567890	123456
<i>Symbolanthus elisabethae</i>	000000000	000000000	b100010000	0000101100	0101100000	0110100001	1011000101	1101011001	1020022100	0100??0000	00??202010	0011a?2???	??1???	
<i>Symbolanthus frigidus</i>	100000000	0001000000	2100000000	0000101100	0100100000	0110000001	1010100101	1101011001	30000221a0	0100??1000	00??202010	0011??2???	??????	
<i>Symbolanthus nerioides</i>	000000000	000000000	1100000000	0000101100	0101100000	0110100001	1011000101	1101011001	1020022100	0100??0000	00??020210	00????????	??????	
<i>Symbolanthus pulcherrimus</i>	000000000	000000000	2100?10000	0000101100	0101100000	0110100001	1011000101	1101011001	1020022100	01000??000	0000202010	0011a?2???	??1?00	
<i>Tachia grandiflora</i>	0000100000	0000000001	200121??1?	0000111100	1100?00000	0110100001	100000?1?0	?101011000	1100022???	???????????	???????????	???????????	??????	
<i>Tachia guianensis</i>	0001100000	0000000001	20012a??1?	0010001100	1000000000	0110100001	10000011?0	0101011000	1100022000	0000??a000	000?001100	0000011000	000000	
<i>Tachia lorentensis</i>	0000100000	0000000001	200121??1?	0010111100	0100100000	0100100001	100000?1?0	?101011000	1100022000	0000??0000	000?0c0???	???????????	??????	
<i>Tachia occidentalis</i>	0000100000	0000000001	20012a??1?	0010111100	1100000000	0110100001	10000011?0	0101011000	1100022000	0000??0101	0??0??0???	???????????	??????	
<i>Tachia parviflora</i>	0000100000	0000000001	11012a??1?	0000101100	1100?00000	0110100001	100000?1?0	0101011000	1100022???	???????????	???????????	???????????	??????	
<i>Tetrapollinia caerulea</i>	1000000000	0001001000	0??0000000	0000101100	0101100000	0000100001	10?0000000	100001000a	1000022111	0000??1000	1000000000	00002?0000	001100	

Apêndice C

Inserções e deleções (*indels*) de ITS recodificados usando o método de "simple indel coding". Para cada *indel*, os estados 0 e 1 indicam, respectivamente, a ausência e presença do *indel*.

<i>Indels</i>	Posição no alinhamento
1	5
2	26
3	38
4	40
5	41–42
6	58
7	65
8	70
9	90
10	91
11	108
12	109–110
13	111
14	112
15	113
16	136
17	137
18	138
19	146
20	147
21	149
22	158
23	170–172
24	175
25	184
26	198
27	209
28	219–220
29	229
30	239
31	254
32	255
33	435
34	436
35	437
36	442
37	443–449
38	455
39	456
40	465
41	471
42	470 e 472–473
43	478
44	479–482
45	484
46	485
47	486
48	489
49	514
50	601
51	608
52	627
53	634
54	639
55	648

Apêndice D

Inserções e deleções (*indels*) de 5S-NTS recodificados usando o método de "simple indel coding". Para cada *indel*, os estados 0 e 1 indicam, respectivamente, a ausência e presença do *indel*.

<i>Indels</i>	Posição no alinhamento
1	2
2	3
3	4
4	5
5	6–7 e 10–16
6	8–9
7	19
8	115–120, 123–144, 146–178 e 180–189
9	121
10	122
11	179
12	190
13	191
14	192
15	204
16	216–224
17	225–231 e 234–237
18	232
19	233
20	238–243 e 246–249
21	244
22	245 e 250–256
23	257
24	262–265 e 268–272
25	266
26	267
27	305

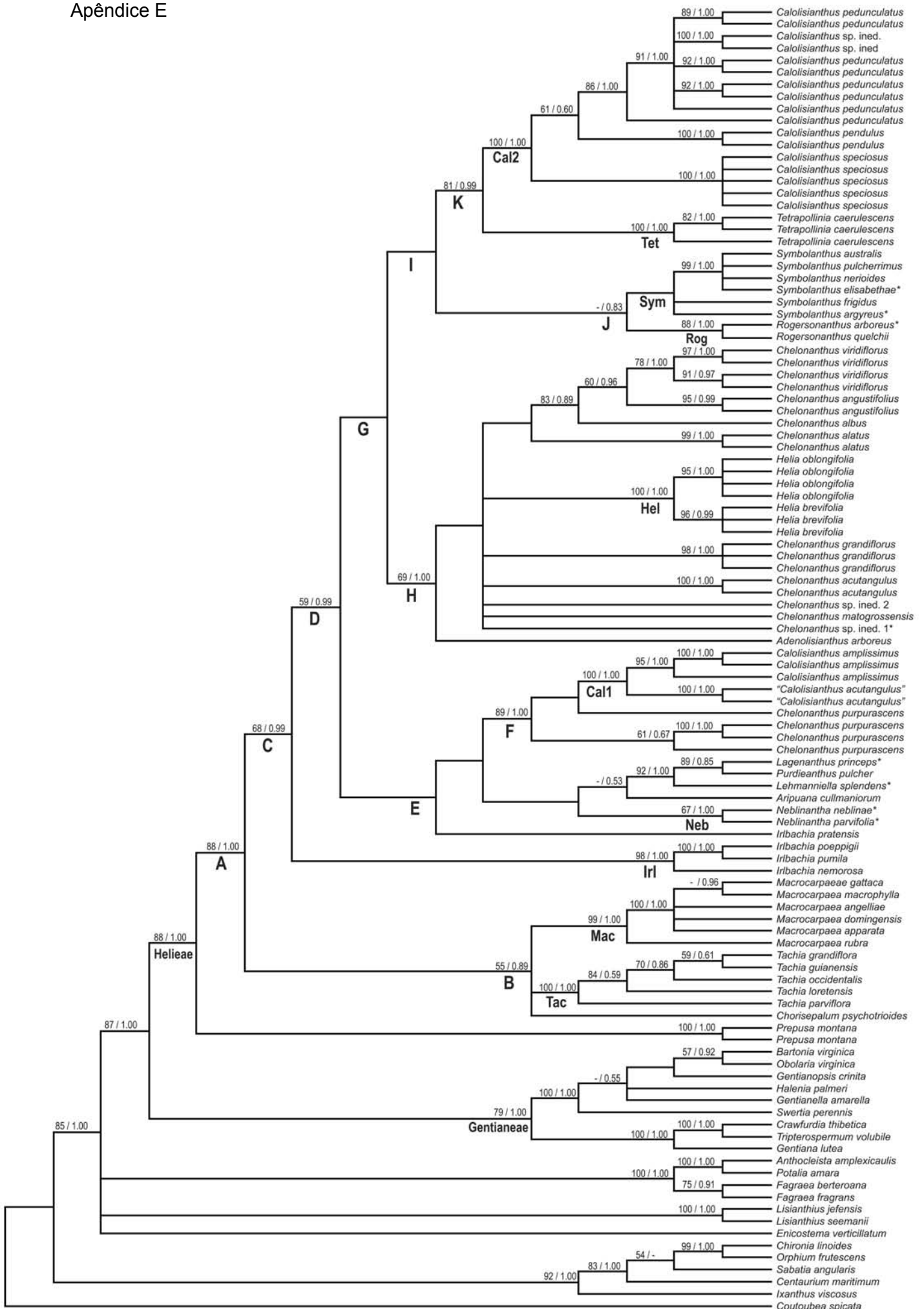


Fig. E1. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Grande sem *indels*", i.e., incluindo dados moleculares e morfológicos, e todos os táxons. Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas. Asterisco indica táxons incluídos nas análises apenas com dados morfológicos.

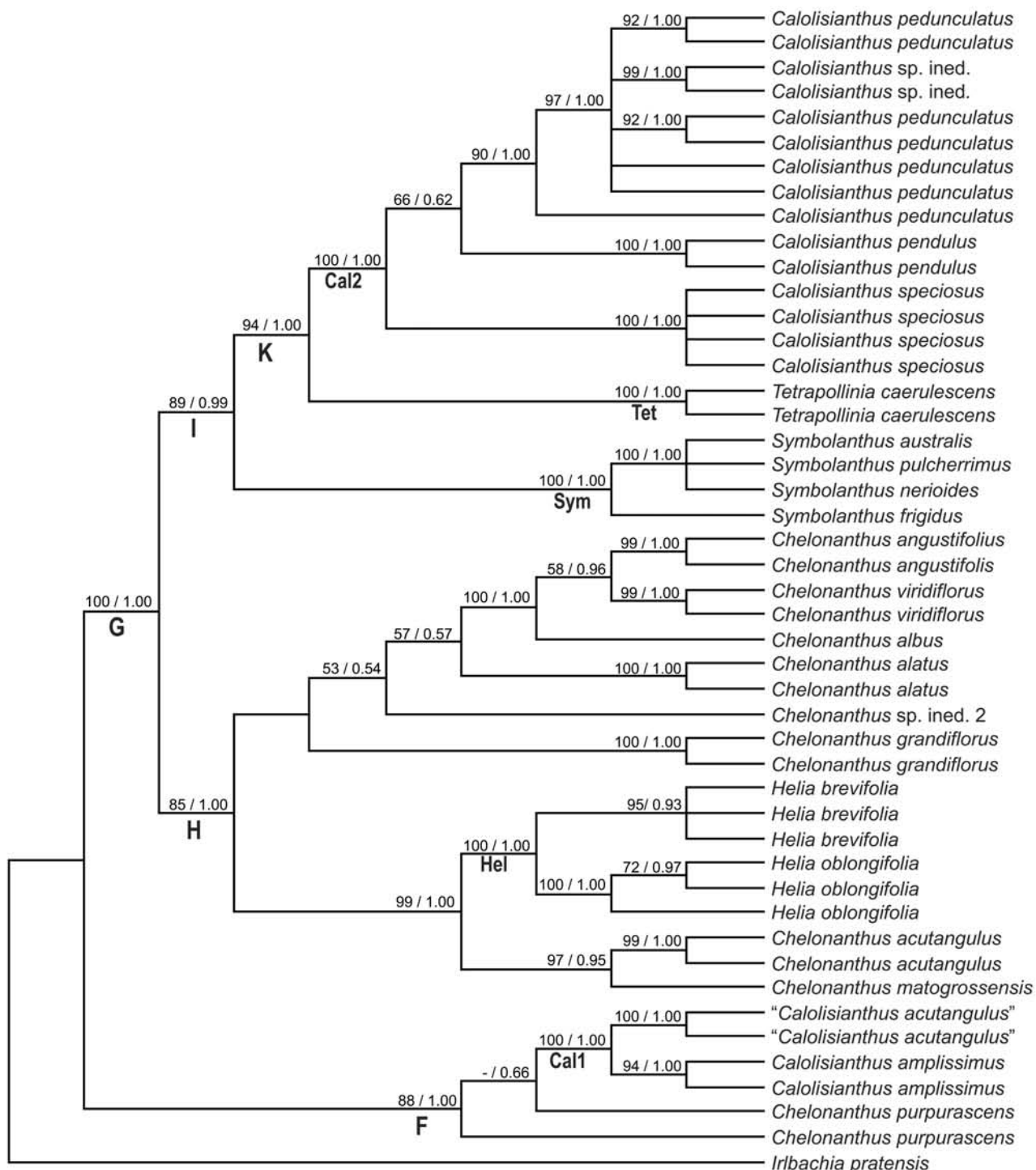


Fig. E3. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Total Pequena sem *indels*", i.e., incluindo dados morfológicos e moleculares, e apenas táxons com dados para as três partições. Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.

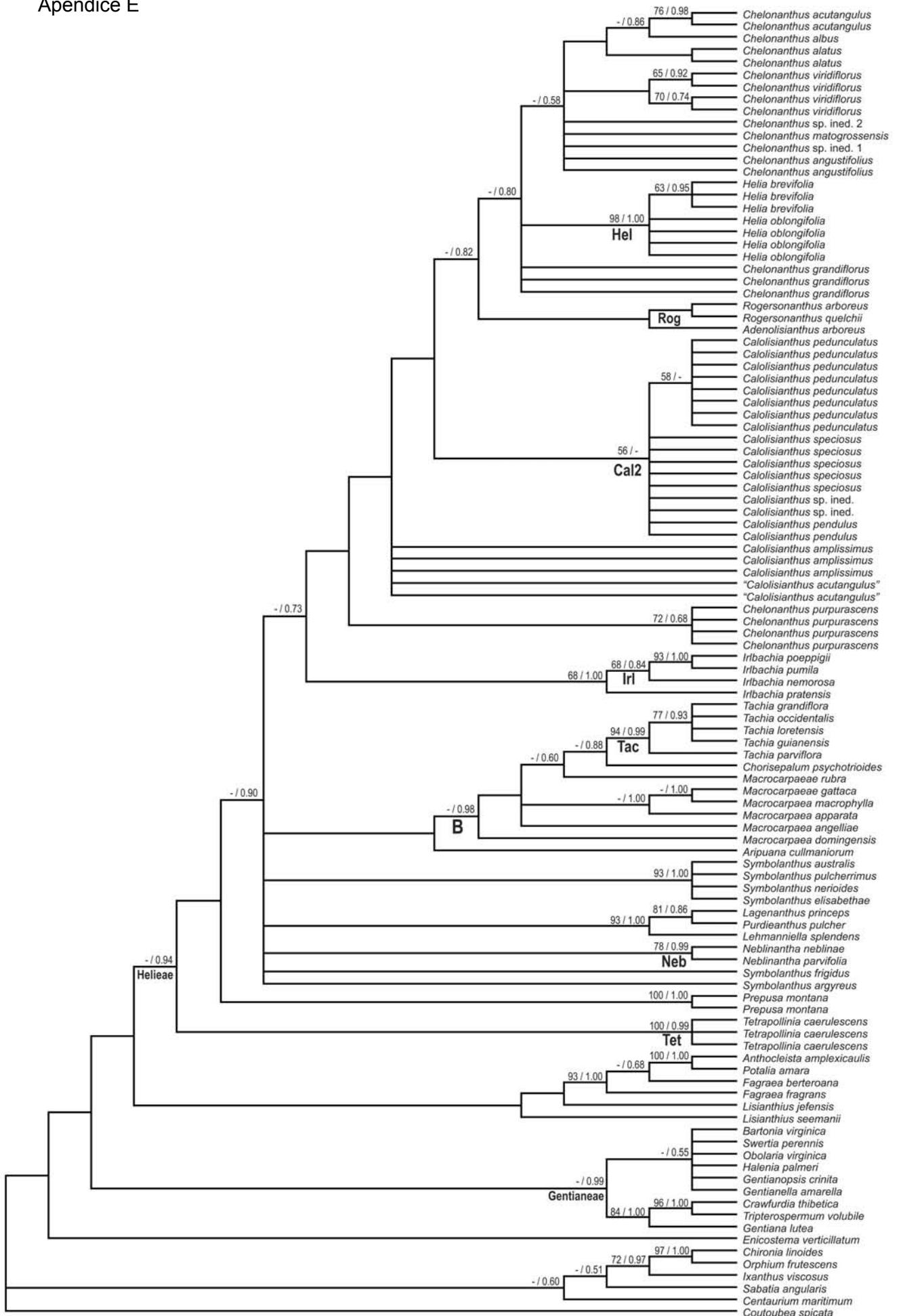


Fig. E4. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Morfologia" (inclui todos os táxons). Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.



Fig. E5. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "ITS com *indels*" (inclui apenas táxons com dados de ITS). Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.



Fig. E6. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "ITS sem *indels*" (inclui apenas táxons com dados de ITS). Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.

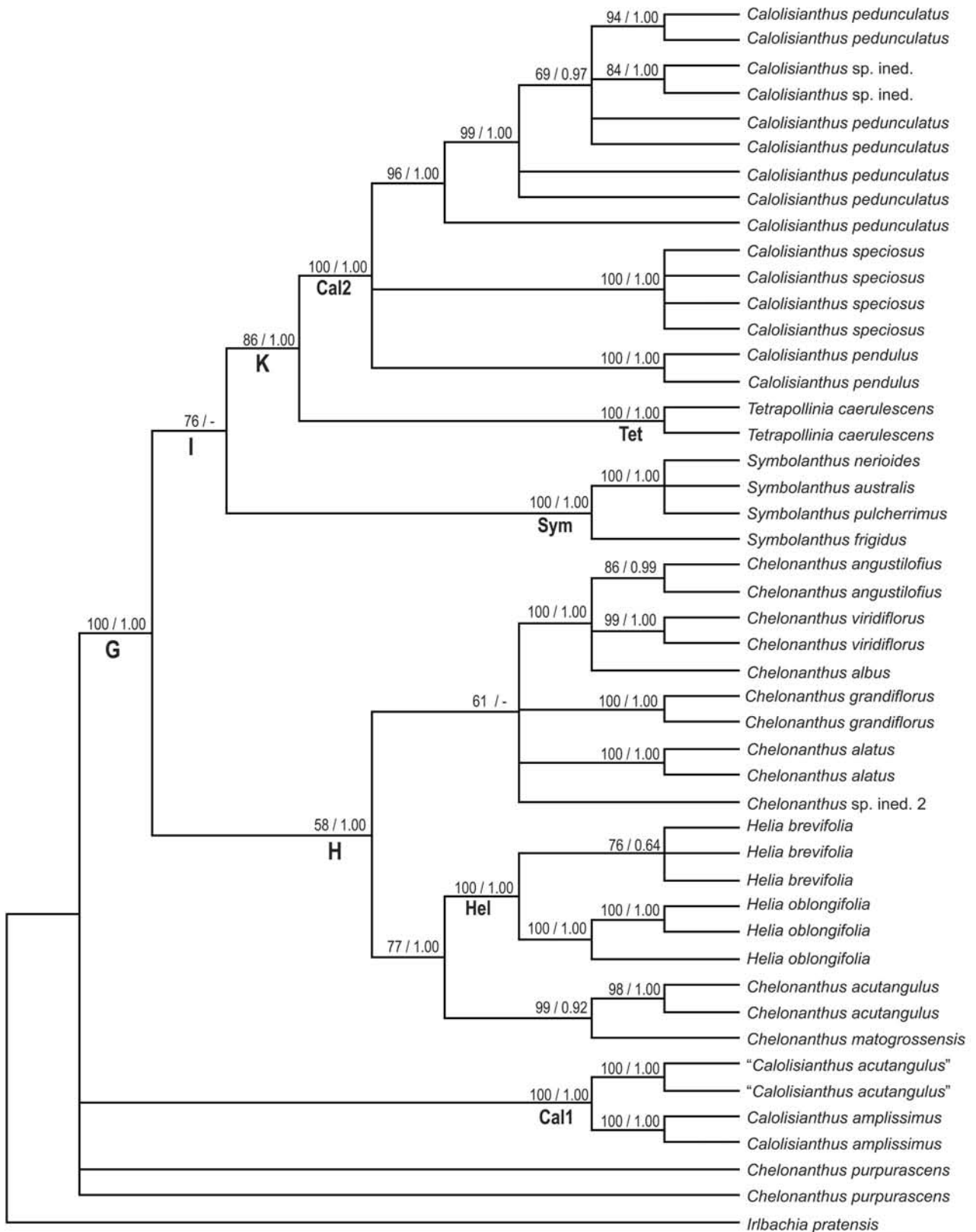


Fig. E7. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "5S-NTS com *indels*" (inclui apenas táxons com dados de 5S-NTS). Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.

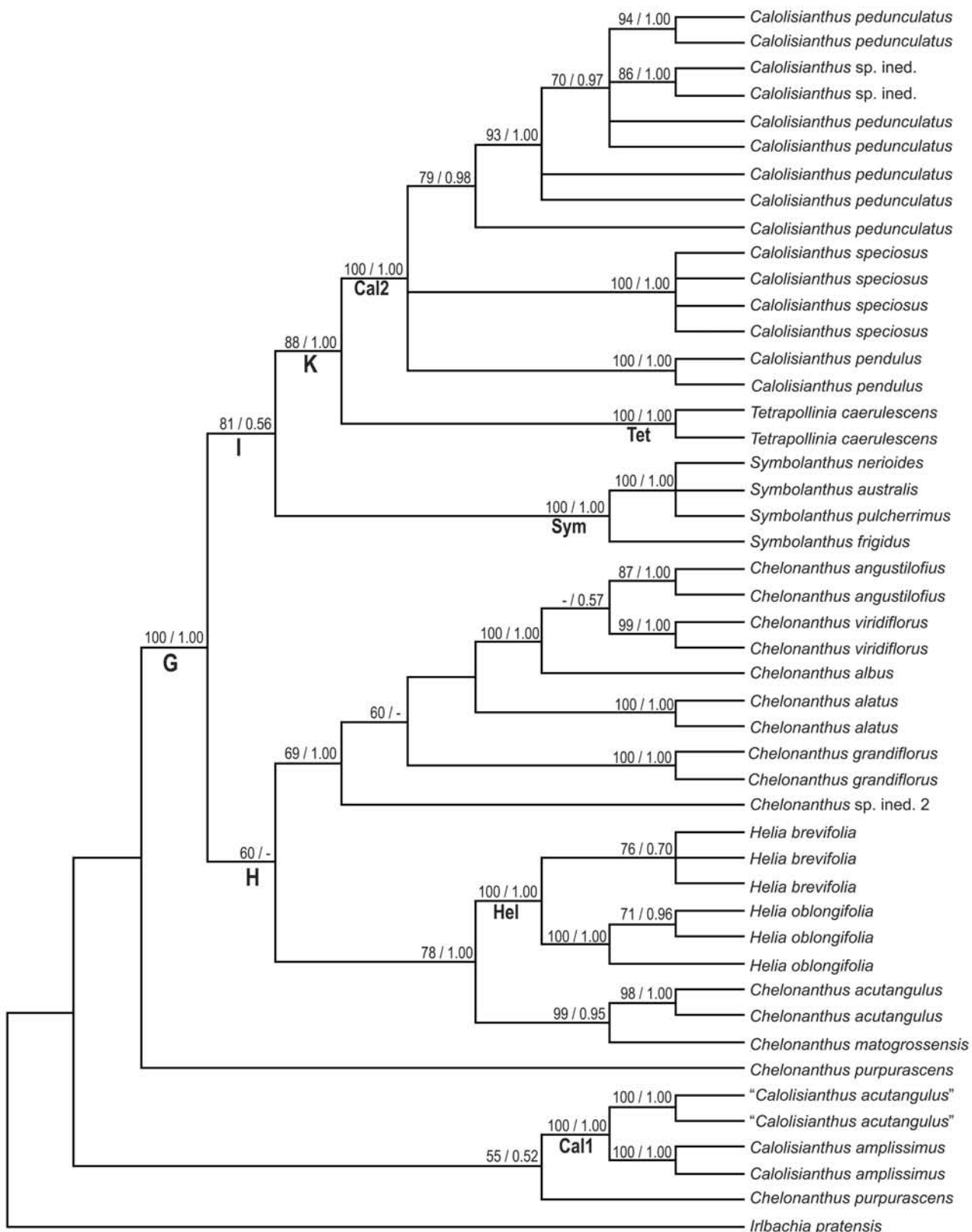


Fig. E8. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "5S-NTS sem *indels*" (inclui apenas táxons com dados de 5S-NTS). Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.



Fig. E9. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Molecular Média com *indels*", i.e., incluindo apenas dados moleculares, e somente táxons com dados para ao menos uma das partições moleculares. Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.

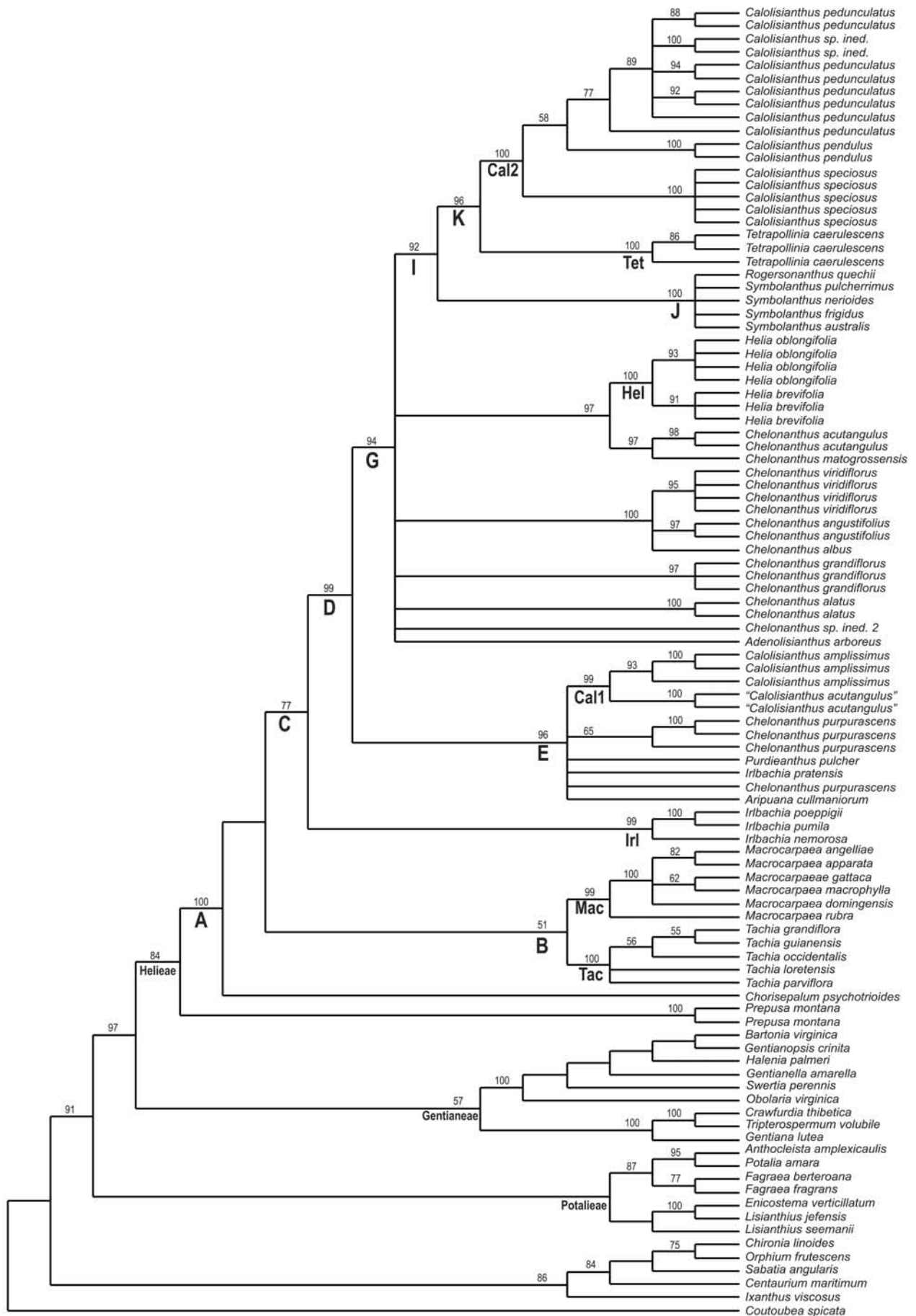


Fig. E10. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Molecular Média sem *indels*", i.e., incluindo apenas dados moleculares, e somente táxons com dados para ao menos uma das partições moleculares. Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.

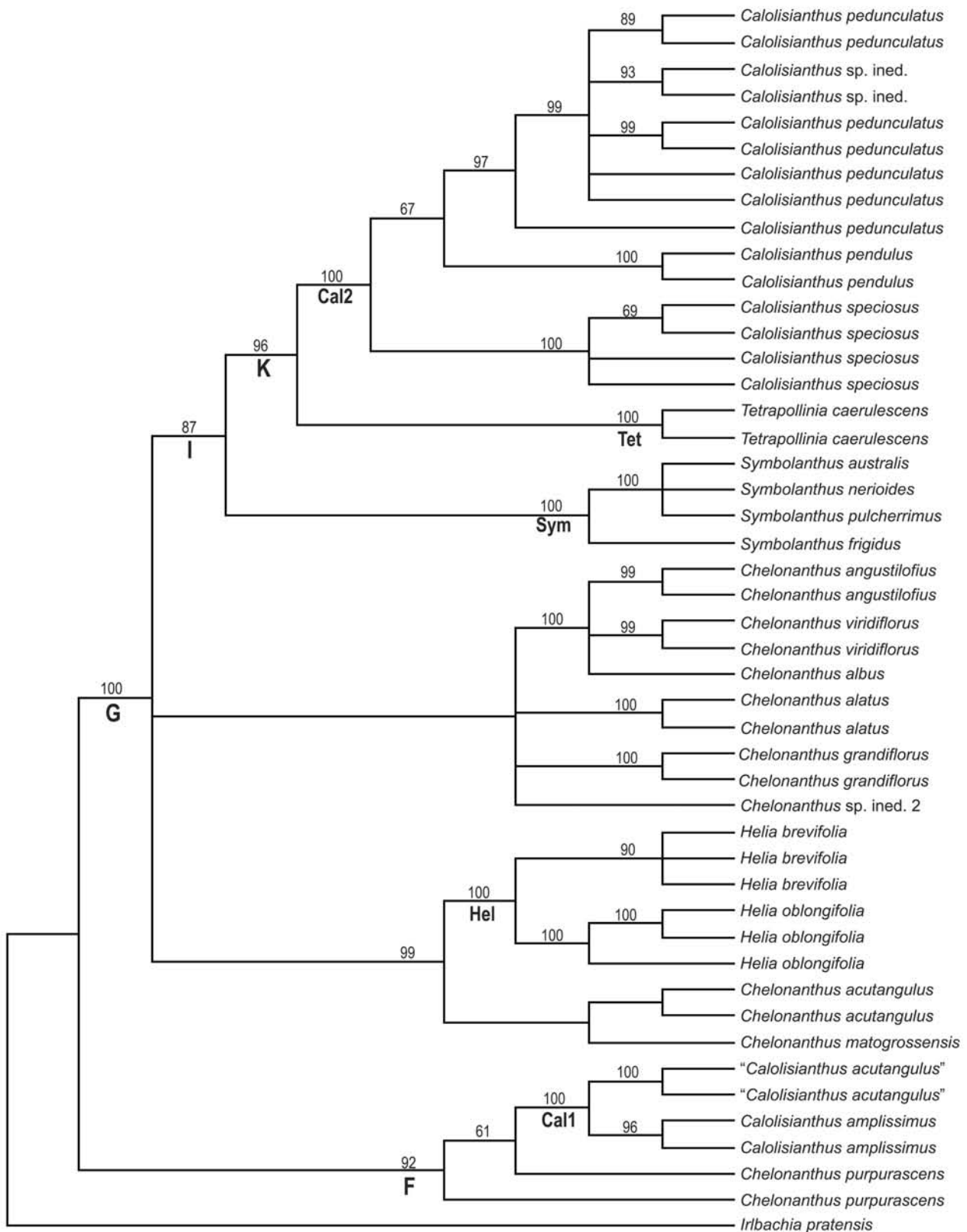


Fig. E11. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Molecular Pequena com *indels*", i.e., incluindo apenas dados moleculares, e somente táxons com dados para as duas partições moleculares. Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.

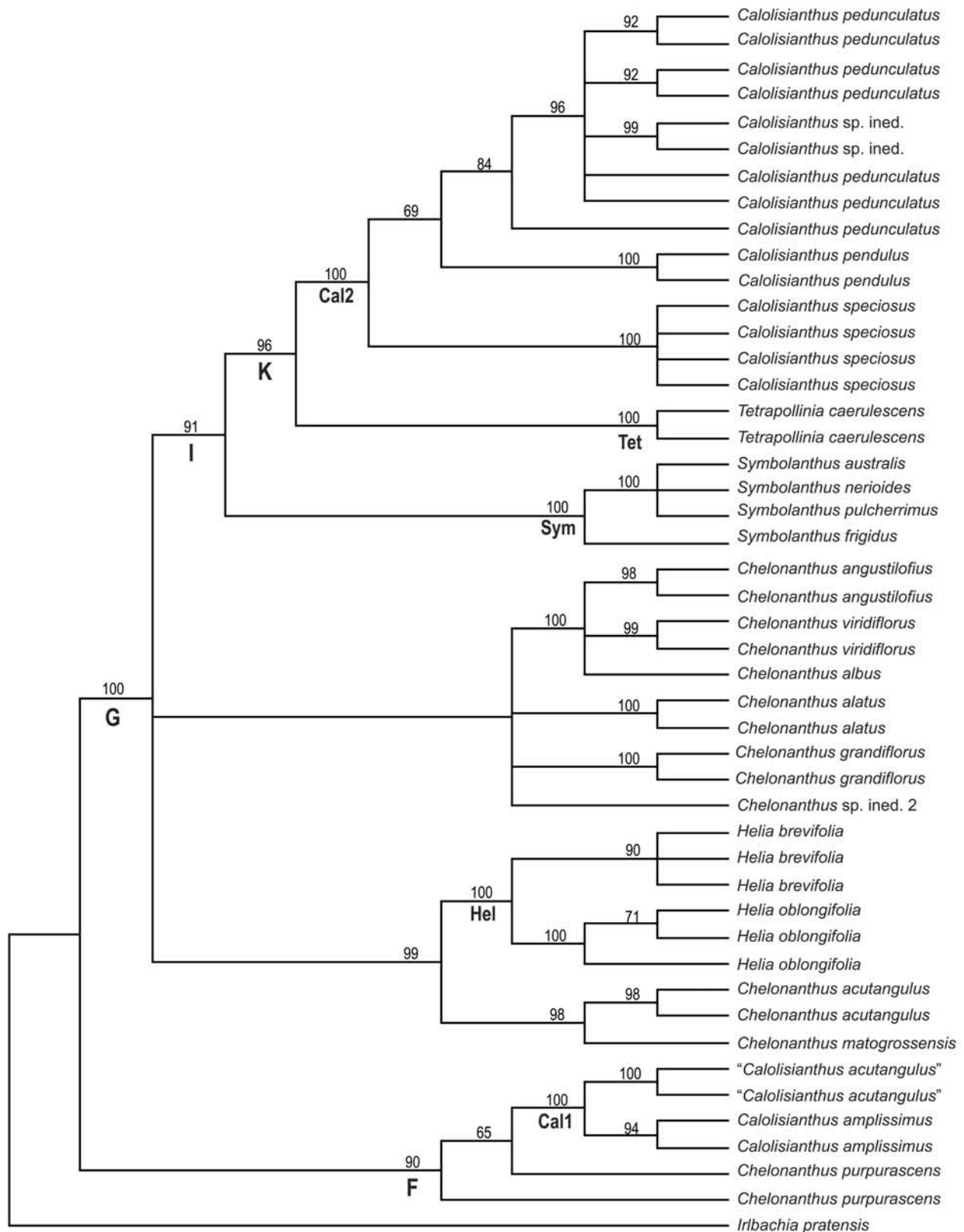


Fig. E12. Consenso estrito da análise de parcimônia da matriz "Combinada Molecular Pequena sem *indels*", i.e., incluindo apenas dados moleculares, e somente táxons com dados para as duas partições moleculares. Porcentagens de *bootstrap* e probabilidades posteriores de análise Bayesiana estão representadas sobre os ramos. Nomes informais entre aspas.

— CAPÍTULO 4 —



LISIANTHUS INFLATUS

EXTRAÍDO DE *NOVA GENERA ET SPECIES PLANTARUM*

**NOVA LECTOTIPIFICAÇÃO DE *CALOLISIANTHUS* GILG
(HELIEAE, GENTIANACEAE)**

Nova lectotipificação de *Calolisianthus* Gilg (Helieae, Gentianaceae) ¹

Abstract

The existing lectotypification of *Calolisianthus* Gilg is questioned. It is proposed that this lectotype is rejected and superseded by the designation of a new lectotype, based on a) conflict with the protologue; b) necessity of avoiding describing a new genus or synonymizing *Calolisianthus* species under other generic names; and c) maintenance of the name associated to a traditional generic concept.

Key words *Calolisianthus*, Gentianaceae, Helieae, new lectotypification, nomenclature

Resumo

A lectotipificação de *Calolisianthus* Gilg é questionada. Propõe-se que esse lectótipo seja rejeitado e substituído pela designação de um novo lectótipo, com base nos seguintes argumentos: a) conflito com o protólogo; b) necessidade de evitar a descrição de um novo gênero ou sinonimizações das espécies de *Calolisianthus* sob outros nomes genéricos; c) manutenção do uso do nome associado a um conceito genérico tradicional.

Palavras-chave *Calolisianthus*, Gentianaceae, Helieae, nomenclatura, nova lectotipificação

O gênero *Calolisianthus* foi estabelecido por Gilg (1895) com base em *Lisianthus* sect. *Calolisianthus* Griseb. (1839). Segundo a descrição apresentada por Gilg, uma das principais características que diferencia *Calolisianthus* dos demais gêneros proximalmente relacionados é o pólen liberado em tétrades e apresentando "exina uniformemente macrorreticulada e espessada". Esta condição diferencia-se, por exemplo, da "exina microrreticulada, parecendo perfurada" em *Helia* Mart., "exina microrreticulada e com numerosos espinhos alongados e pontiagudos" em *Irlbachia* Mart., e da "exina espessada e macrorreticulada nas laterais e microrreticulada na região superior" em *Symbolanthus* (Gilg, 1895). O gênero *Calolisianthus* foi originalmente circunscrito com 6 espécies brasileiras – *C. amplissimus* (Mart.) Gilg., *C. speciosus* (Cham. & Schltl.) Gilg, *C. pendulus* (Mart.) Gilg, *C. pulcherrimus* (Mart.) Gilg, *C. pedunculatus* (Cham. & Schltl.) Gilg., *C. acutangulus* (Mart.) Gilg. – e uma espécie das Antilhas, *C. frigidus* (Sw.) Gilg, que atualmente é tratada como

¹ A ser submetido ao periódico internacional *Taxon*.

uma espécie de *Symbolanthus* (Struwe & Gould, 2004). Apesar da instabilidade quanto às delimitações dos gêneros de Helieae, tribo à qual pertence *Calolisianthus*, circunscrições mais estreitas vêm sendo favorecidas pelos pesquisadores dessa tribo (e.g. Struwe & al., 1997; Struwe & al., 2002).

Pringle (1995), em seu tratamento sobre as Gentianaceae do Equador, adotou a ampla circunscrição genérica proposta por Maas (1985), que sinonimizou uma série de gêneros em *Irlbachia* Mart., inclusive *Calolisianthus* (vide Struwe & Albert, 1998 para discussões sobre a ilegitimidade dessa proposta). Apesar de *Calolisianthus* não ocorrer no Equador e, conseqüentemente, não ter sido alvo de seu estudo, ao elaborar o cabeçalho do gênero *Irlbachia*, Pringle formalizou a tipificação de *Calolisianthus*, com a escolha da espécie *C. amplissimus* (Mart.) Gilg como lectótipo.

Estudos sobre a morfologia polínica de gêneros de Gentianaceae mostraram que *C. amplissimus* possui pólen liberado em políades e com exina macrorreticulada portando muro elevado e com alças (Nilsson, 2002). Durante a elaboração da revisão taxonômica de *Calolisianthus* (Calió & Pirani, em prep., Cap. 5), evidenciou-se que a escolha por *C. amplissimus* como lectótipo contrariava diretamente o protólogo do gênero, principalmente devido à distinta morfologia polínica. Há também outras características que diferenciam *C. amplissimus* das demais espécies de *Calolisianthus*: a presença de grandes alas no caule (× pequena alas ou costelas), folhas membranáceas (× folhas coriáceas), hábito herbáceo sem lenhosidade na base (× hábito subarborescente a herbáceo com lenhosidade na base) e ocorrência em locais mais úmidos e sombreados (× locais mais secos e expostos diretamente ao sol). Todas essas características já indicavam a necessidade de tratar *C. amplissimus*, além de *C. acutangulus* (Mart.) Gilg, separadamente das demais. Além disso, estudos filogenéticos com dados morfológicos e moleculares refutaram a monofilia de *Calolisianthus* em sua circunscrição tradicional: *C. amplissimus* e *C. acutangulus* agruparam-se com a espécie-tipo de outro gênero (*Chelonanthus purpurascens*) enquanto que as demais espécies emergiram como uma linhagem independente em outro clado, e proximamente relacionadas aos gêneros *Symbolanthus* e *Tetrapollinia* (Calió & al., em prep., Cap. 3). A relação entre *Ch. purpurascens*, *Ca. amplissimus* e *Ca. acutangulus* é fortemente sustentada, sendo que os grãos de pólen liberados em políades e a exina com alças configuram-se como sinapomorfias morfológicas que caracterizam o clado formado por essas espécies (Calió & al., em prep., Cap. 3).

Vale ressaltar ainda que a conseqüência da manutenção da lectotipificação proposta por Pringle (1995) seria a necessidade de associar as demais espécies de *Calolisianthus* a outro nome genérico, utilizando um já existente (*Symbolanthus* ou *Tetrapollinia*, devido ao relacionamento filogenético próximo) ou criando um nome novo. De fato, essas espécies exibem atributos morfológicos que as distinguem de *Symbolanthus* e *Tetrapollinia*, e que,

em um contexto filogenético, configuram-se como possíveis sinapomorfias que justificam a atribuição de *status* genérico às mesmas. Entretanto, considerando-se que essas espécies de *Calolisianthus* pertencem à Helieae – tribo conhecida por seus complicados problemas nomenclaturais (Struwe & Albert, 1998; Weaver, 1972; Zijlstra & al., 1999) causados principalmente pelas grandes variações quanto às delimitações de seus gêneros (e.g. Grisebach, 1839, 1845; Kuntze, 1891; Gilg, 1895; Maas, 1985) –, transferi-las para outros gêneros ou até mesmo criar um novo nome genérico é absolutamente desvantajoso e contrário aos interesses de maior estabilidade nomenclatural.

Por fim, devido às características morfológicas e ecológicas explicitadas acima, o uso do conceito genérico *Calolisianthus* não está associado a *C. amplissimus* (e *C. acutangulus*), mas sim às demais espécies do gênero.

Desta forma, argumenta-se em favor de uma nova lectotipificação de *Calolisianthus*, com base em três argumentos: a) há discordância entre o protólogo do gênero e a espécie escolhida por Pringle (1995) como lectótipo (art. 10.5b, CINB); b) evitar a descrição de um novo gênero ou transferências para outros gêneros para acomodar os binômios de *Calolisianthus*, em uma tribo já notória pela proliferação e confusão nomenclatural; e c) manutenção do uso do nome *Calolisianthus* associado a um conceito genérico tradicional e bem difundido, que envolve atributos morfológicos e ecológicos característicos.

Escolhemos *C. speciosus* para a nova lectotipificação do gênero *Calolisianthus*, pois, além de não contradizer o protólogo e corresponder ao conceito do gênero, historicamente essa espécie não teve problemas associados ao uso de seu nome, além de ser facilmente identificável.

Calolisianthus Gilg in Engler & Prantl Nat. Pflanzenfam. 4(2): 99. 1895 – Tipo: *Calolisianthus speciosus* (Cham. & Schldl.) Gilg (novo lectótipo, aqui designado).

Referências bibliográficas

Calió, M.F. & Pirani, J.R., em prep. Revisão de *Calolisianthus* Gilg (Helieae, Gentianaceae), um gênero endêmico dos campos rupestres e cerrados no Brasil. A ser submetido a *Taxon*.

Calió, M.F., Pirani, J.R. Struwe, L. & Lepis, K.B., em prep. Estudo filogenético de Helieae (Gentianaceae) com ênfase nos limites genéricos de *Calolisianthus* Gilg, *Chelonanthus* Gilg e *Helia* Mart., baseado em dados moleculares e morfológicos. A ser submetido a *Molecular Phylogenetics and Evolution*.

- ICBN, 2006. McNeill, J., Barrie, F.R., Burdet, H.M., Demoulin, V., Hawksworth, D.L., Marhold, K. Nicolson, D.H., Prado, J., Silva, P.C., Skog, J.E., Wiersema, J.H. & Turland, N.J. (eds.), *International Code of Botanical Nomenclature (Vienna Code) adopted by the International Botanical Congress Vienna, Austria, July 2005*, A.R.G. Gantner Verlag, Ruggel Liechtenstein.
- Gilg, E. 1895. Gentianaceae. Pp. 50–108 in: Engler, H.G.A. & Prantl, K.A.E. (eds.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, vol. 4(2). Verlag von Wilhem Engelmann, Leipzig.
- Grisebach, A.H.R. 1839 [1838]. *Genera et species plantarum*. J.G. Cotta, Stuttgart and Tübingen.
- Grisebach, A.H.R. 1845. Gentianaceae. Pp. 39–141 in: Candolle, A. de (ed.), *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*, vol. 9. Fortin, Masson, et Sociorum, Paris.
- Kuntze, C.E.O. 1891. *Revisio generum plantarum*, vol. 2. Arthur Felix, Leipzig.
- Maas, P.J.M. 1985. Nomenclatural notes on neotropical Lisyiantheae (Gentianaceae). *Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. C* 88: 405–412.
- Nilsson, S. 2002. Gentianaceae – a review of palynology. Pp. 377–497 in: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae – systematics and natural history*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Pringle, J.S. 1995. Family 159A. Gentianaceae. Pp. 1–131 in: Harling, G. & Andersson, L. (eds.), *Flora of Ecuador*, vol. 53. Department of Systematic Botany, Gothenburg University, Göteborg.
- Struwe, L. & Albert, V.A. 1998. *Lisianthus* P.Br., its probable homonym *Lisyanthus* Aubl. (Gentianaceae) and the priority of *Helia* Mart. over *Irlbachia* Mart. as its substitute. *Harvard Pap. Bot.* 3(1): 67–71.
- Struwe, L. & Gould, K. 2004. Redefinition of *Symbolanthus* to include *Wurdackanthus* (Gentianaceae — Helieae). *Novon* 14: 354–359.
- Struwe, L., Kadereit, J., Klackenberg, J., Nilsson, S., Thiv, M., von Hagen, K.B. & Albert, V.A. 2002. Systematics, character evolution and biogeography of Gentianaceae, including a new tribal and subtribal classification. Pp. 21–309 in: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae – Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Struwe, L., Maas, P.J.M. & Albert, V.A. 1997. *Aripuana cullmaniorum*, a new genus and species of Gentianaceae from white-sands of southeastern Amazonas, Brazil. *Harvard Pap. Bot.* 2(2): 235–253.
- Weaver, R.E., Jr. 1972. A revision of the neotropical genus *Lisianthus* (Gentianaceae). *J. Arnold Arb.* 53: 76–100, 234–272, 273–311.
- Zijlstra, G., Maas, P.J.M., Gandhi, K. 1999. On the nonexistence of *Lisyanthus* Aublet. *Harvard Pap. Bot.* 4(1): 289–292.

— CAPÍTULO 5 —



LISIANTHUS PULCHERRIMUS

EXTRAÍDO DE NOVA GENERA ET SPECIES PLANTARUM

**REVISÃO DE *CALOLISIANTHUS* GILG (HELIEAE,
GENTIANACEAE), UM GÊNERO ENDÊMICO DOS CAMPOS
RUPESTRES E CERRADOS NO BRASIL**

Revisão de *Calolisianthus* Gilg (Helieae, Gentianaceae), um gênero endêmico dos campos rupestres e cerrados no Brasil¹

Abstract

The genus *Calolisianthus* Gilg (Helieae, Gentianaceae) formerly encompassed 6–10 species, but as a result of molecular and morphological studies, 4 species are now recognized. These are endemic to campos rupestres and cerrados in Brazil. The genus is characterized by herbaceous to subshrubby habit, by pink, red, purple-blue or lilac flowers, and by shedding pollen in reticulate tetrads with islands of coarse reticulum. Taxonomic key, morphological descriptions, illustrations, distribution maps, and comments about conservation status are provided.

Key words *Calolisianthus*, distribution, morphology, nomenclature, revision, typification

Resumo

O gênero *Calolisianthus* Gilg (Helieae, Gentianaceae) constituía-se de 6–10 espécies, mas como resultado de estudos moleculares e morfológicos, 4 espécies são agora reconhecidas. Estas são endêmicas dos campos rupestres e cerrados do Brasil. O gênero é caracterizado pelo hábito herbáceo a subarborescente, pelas flores de cor rosa, vermelha, roxo-azulada ou lilás e por tétrades polínicas com exina reticulada, apresentando ilhas de retículo mais espessado. São apresentados chave de identificação, descrições morfológicas, ilustrações, mapas de distribuição e comentários sobre o *status* de conservação de cada espécie.

Palavras-chave *Calolisianthus*, distribuição, morfologia, nomenclatura, revisão, tipificações

Introdução

Gentianaceae é uma família de Angiospermas com cerca de 87 gêneros e 1690 espécies (Struwe & al., 2002). São reconhecidas 6 tribos monofiléticas (Struwe & al., 2002), sendo que Helieae é uma das mais diversas quanto à sua morfologia e uma das maiores em número de gêneros (Struwe & al., 2009), representando mais de 50% do total de gêneros presentes na região Neotropical (Calió, 2009). Essa tribo tem uma história nomenclatural

¹ A ser submetido ao periódico internacional *Taxon*.

complexa (Struwe & Albert, 1998; Zijlstra & al., 1999), com grandes alterações quanto à circunscrição de seus gêneros, ora bastante abrangentes (*Lisyanthus/Lisianthus* em Grisebach, 1839, 1845; *Helia* em Kuntze, 1891; *Irlbachia* em Maas, 1985), ora mais estreitos (Gilg, 1895; Maguire, 1981, 1985; Maguire & Boom, 1989; Struwe & al., 1997). Estudos filogenéticos evidenciaram a possibilidade de categorizar a diversidade morfológica, geográfica e ecológica da tribo por meio da aceitação de gêneros estreitamente circunscritos, sendo assim reconhecidos vinte e três gêneros (Struwe & al., 2002, 2009).

Calolisianthus Gilg é um desses gêneros e, em sua circunscrição tradicional, compreendia 6–10 espécies de ervas e subarbustos distribuídos em áreas de cerrado e campos rupestres, na região centro-leste do Brasil, com ocorrências esparsas no leste da Bolívia. *Calolisianthus* nunca foi alvo de revisão, mas foi abordado em diversos trabalhos de cunho florístico, tanto sobre regiões bastante restritas, como Serra do Cipó e Grão-Mogol em Minas Gerais (Cordeiro 1987, 2004), Mucugê e Pico das Almas na Bahia (Harley & Simmons, 1986; Harvey, 1995) e Parque do Ipiranga no município de São Paulo (Cordeiro, 1983), quanto sobre áreas mais amplas, como as listas e floras dos estados de São Paulo (Angely, 1971; Cordeiro, 2005), Santa Catarina (Fabris & Klein, 1971) e Paraná (Angely, 1965). O tratamento mais completo foi o de Progel (1865), que envolveu todas as Gentianaceae do território brasileiro.

Recentemente, resultados de análises filogenéticas baseadas em dados morfológicos e moleculares refutaram o monofiletismo de *Calolisianthus* em sua circunscrição até então aceita (Calió & al., em prep., Cap. 3). Resumidamente, a espécie que havia sido designada como lectótipo do gênero (Pringle, 1995) agrupou-se com a espécie-tipo de outro gênero (*Chelonanthus purpurascens*), enquanto que as demais espécies emergiram como uma linhagem independente em outro clado, e proximamente relacionadas aos gêneros *Symbolanthus* e *Tetrapollinia*. Havia quatro diferentes maneiras de lidar com esse resultado: a) criar um novo gênero para acomodar essas espécies que emergiram no clado com *Symbolanthus* e *Tetrapollinia*; b) sinonimizar essas espécies em *Tetrapollinia*; c) sinonimizar essas espécies e *Tetrapollinia* em *Symbolanthus*; ou d) escolher um novo lectótipo para o gênero dentre essas espécies, e, dessa forma, manter o nome *Calolisianthus* vinculado às mesmas. A nova lectotipificação foi o caminho escolhido, não apenas por ser a opção mais concordante com os interesses de estabilidade nomenclatural mas também pela constatação de que o lectótipo escolhido por Pringle (1995) para *Calolisianthus* está em conflito com o protólogo (Calió & Pirani, em prep., Cap. 4).

O objetivo deste capítulo é, com base nessa nova lectotipificação, apresentar a revisão do gênero *Calolisianthus* em sua nova circunscrição, incluindo descrições morfológicas, ilustrações, mapas de distribuição geográfica e informações sobre *status* de conservação e fenologia.

Materiais e Métodos

O estudo morfológico baseou-se na análise de material vivo durante as expedições de coleta e de material dos seguintes herbários (exsicatas ou fotos): ALCB, BHCB, CHRB*, CEN, CEPEC, CESJ*, CTES, E, ESA*, F, G, GUA, HAL, HB*, HRB, HUCS (não indexado), HUEFS, HUFU, HXBH, IAC, IBGE, IPA, K, L, LIL, LP, M, MBM*, NY*, P, PMSP*, R*, RB*, RBR, RUSU, SJRP, SP*, SPF*, SPFR, SPSF*, U, UB, UEC*, UFG, UPCB*, US*, VIC, W* (* indica herbários visitados). Materiais-tipo dos herbários E, F (B *phototypes*), HAL, K, M, P foram analisados apenas por meio de fotos. Uma listagem de todos os materiais examinados encontra-se no Apêndice A.

A observação detalhada do material foi feita sob microscópio estereoscópico SZ Olympus. Somente estruturas completamente desenvolvidas foram medidas e, para tanto, foram utilizados o retículo milimétrico do microscópio para estruturas diminutas e paquímetro para estruturas maiores que 1 cm. Flores foram re-hidratadas com gotas de glicerina por cerca de 40 segundos em forno de microondas, anteriormente às medições. As formas de estruturas foram descritas segundo Radford & al. (1974), os padrões de venação, segundo Hickey (1979) e tipologia de inflorescências, segundo Weberling (1989). Dados sobre o status de conservação são fornecidos com base nos critérios da IUCN (2001).

Devido a dificuldades em se descrever certas estruturas e para garantir compreensão da descrição morfológica, foi proposta uma padronização da terminologia utilizada. O par de perfilos (estruturas foliares foliáceas ou escamiformes mais próximas da base do cálice) é denominado como “bractéolas”. A estrutura caulinar compreendida entre a base do cálice e a “bractéola” é denominada “pedicelo”. As estruturas foliares subtendendo várias flores agrupadas ou, no caso das flores solitárias, abaixo do par de “bractéolas” (em direção à base) são denominadas “brácteas”, sendo estas estruturas foliáceas ou escamiformes.

As coordenadas para elaboração de mapas de distribuição geográfica foram obtidas a partir de medições locais (informadas nas etiquetas das exsicatas) ou por meio de georreferenciamento posterior, que tomou por base o município em que foi coletado o material. Os mapas foram elaborados com o programa ArcGIS 9.2 (ESRI, 2006).

Resultados e Discussão

Morfologia. — O estudo detalhado de espécimes de *Calolisianthus* permitiu o aumento do conhecimento acerca da morfologia do gênero; atributos característicos do gênero e de cada espécie apresentam-se ilustrados nas figuras de 1 a 7. As espécies do

gênero *Calolisianthus* caracterizam-se por serem ervas com base lenhosa a subarbustos, inteiramente glabros. A porção aérea da planta (ou em alguns casos aparentemente toda ela) morre após a floração e frutificação, sendo que o estudo de indivíduos no campo mostrou a presença de um rizoma simpodial, do qual brota um ramo com folhas, flores ou frutos, e um ou mais restos de ramos antigos, provavelmente remanescentes de outros ramos que um dia também floresceram, frutificaram e morreram (assim como o padrão descrito por Bell, 1991). Com base nisso, é muito provável que essas plantas sejam perenes, porém com ramos monocárpicos anuais. A porção aérea do caule é sempre verde e cilíndrica, embora pareça quadrangular ao toque. Isso se deve à presença de quatro costelas ou pequenas alas que se prolongam a partir da linha estipular até o nó imediatamente inferior (e.g. Fig. 2A).

As folhas dispõem-se ao longo do caule de modo bastante característico, apresentando-se mais agrupadas na porção basal do caule e mais distanciadas entre si em direção ao ápice (Fig. 4A). Além disso, variam em tamanho, sendo muito pequenas na base (freqüentemente difíceis de serem observadas), aumentando e depois reduzindo gradualmente seu tamanho em direção ao ápice, de modo que as folhas na porção mediana do caule são maiores do que as da base e do ápice da planta. As folhas são opostas e unidas por uma linha estipular típica de Gentianales. São sempre verdes e lustrosas ao menos na face adaxial, levemente discolores, de textura carnosa e com margem hialina. Em muitos casos, a nervura central na face abaxial é bem proeminente e prolonga-se um pouco além da base da folha, formando uma pequena quilha ou ala. Apresentam a base curto-peciolada ou, mais freqüentemente, séssil, com forma atenuada, arredondada ou cordiforme, enquanto o ápice varia entre arredondado a acuminado, podendo ou não ser mucronado (Figs. 2C-E). Na face abaxial, próximo à base, há nectários extra-florais, sempre conspicuos em *C. speciosus* (Fig. 4C), e pouco conspicuos (aparecendo como pequenas manchas de difícil delimitação) ou inconspicuos nas demais espécies. Estudos anatômicos detectaram a presença de tecido nectarífero em plantas cujo nectário não era conspicuo (Delgado, 2008). Formigas são usualmente observadas sobre essa área na base das folhas.

Nas plantas desse gênero, assim como em muitas outras Gentianaceae, a distinção entre porção vegetativa e porção reprodutiva é bastante complicada, de modo que não é possível estabelecer o limite basal da inflorescência. Freqüentemente, a porção caulinar que subtende as flores não apresenta costelas ou alas e sempre apresenta-se encimada por um par de estruturas foliáceas ou escamiformes (e.g. Figs. 5A e 5D; ver seção “Materiais e Métodos” para explicação da terminologia aplicada às mesmas). As flores são solitárias ou agrupadas em cimeiras dicasiais, freqüentemente paucifloras (Figs. 5D e 7B).

Os botões florais, sempre agudos no ápice (Fig. 1D), são eretos quando nascem, mas, com o desenvolvimento da flor, vão paulatinamente atingindo uma posição quase

horizontal; em alguns casos, as flores maduras são pendentes. Tais diferenças quanto ao posicionamento dos botões e flores devem-se à angulação do pedicelo. O cálice, bastante característico de Helieae, é verde, coriáceo e apresenta usualmente cinco lobos com margens hialinas e uma região nectarífera na porção dorsal, sobre a qual freqüentemente são observadas formigas. Em materiais frescos, essa região apresenta-se como uma faixa brilhante, normalmente com coloração verde mais clara do que o resto do cálice (Fig. 6B); em materiais de herbário, essa região apresenta-se escurecida. Interiormente, o cálice apresenta uma série de coléteres, i.e. estruturas glandulares comuns a Gentianales (Fig. 2G). A corola pode ser campanulada, infundibuliforme ou hipocrateriforme (Figs. 7B, 5A, 6C, respectivamente) e apresenta coloração lilás a alva, roxo-azulada, vermelha ou rosa, sendo que guias de nectários podem ou não estar presentes. A corola é usualmente subcarnosa, mas a porção mais basal, que fica recoberta pelo cálice, é mais frágil e tem a forma levemente ovóide, pois envolve perfeitamente o ovário. Logo acima dessa porção recoberta pelo cálice, há uma região espessada, que internamente corresponde ao ponto de inserção dos estames. Essa região espessada pode ou não ser a porção mais estreita de toda a corola. No caso das corolas campanuladas e infundibuliformes, acima desse ponto, a corola alarga-se abruptamente. Os lobos da corola são usualmente cinco e variam quanto ao seu formato, dispondo-se horizontal ou perpendicularmente em relação ao tubo (Fig. 6B-C). A corola é actinomorfa, mas as estruturas reprodutivas apresentam-se agrupadas na porção inferior da corola (Fig. 5B).

O androceu heterodínamo é formado por cinco estames (usualmente), com filetes longos e delgados, cuja coloração varia entre verde, alva a amarelada ou rosada (Fig. 5C). As anteras são introrsas, recurvam-se após a antese, apresentam coloração variando entre alva a amarela, rosa ou verde, são dorsifixas, sagitadas na base e possuem um apêndice estéril no ápice (e.g. Fig. 2K). O pólen é liberado em tétrades e apresenta exina reticulada com ilhas de retículo mais espessado (Nilsson, 2002). O gineceu é formado por um ovário verde, súpero, bicarpelar, bilocular, com placentação parietal. Na base do ovário, há um tecido de textura diferenciada, que provavelmente é um disco nectarífero (e.g. Fig. 1K). A porção apical do ovário transforma-se gradualmente em um estilete cilíndrico, longo e delgado, que apresenta coloração variando de verde a amarela, alva ou lilás, encimado por dois lobos estigmáticos, carnosos e internamente papilosos, cuja coloração varia como a do estilete (Fig. 6E). Na fase final da vida da flor, provavelmente após a fecundação, o estilete apresenta-se comprimido e espiralado em seu comprimento. Estilete, corola e cálice são persistentes no fruto (Fig. 5A), que é uma cápsula acastanhada, com muitas sementes.

As sementes das espécies de *Calolisianthus* caracterizam-se por sua forma angulosa, retangular a cúbica, laterais levemente côncavas; a testa apresenta células convexas, com espessamentos em faixas ou reticulados (Bouman & al., 2002). Não foram

realizados estudos quanto à dispersão das sementes; entretanto, acredita-se que, apesar do tamanho diminuto, as sementes não sejam adaptadas à dispersão à longa distância.

Estudos sobre polinização com espécies desse gênero concluíram que a autopolinização espontânea é muito freqüente, devendo ser esse o principal mecanismo para produção de sementes (Freitas & Sazima, 2009). Acredita-se que essa deva ser a principal estratégia de sobrevivência dessas espécies, pois habitualmente essas plantas não são encontradas formando populações. Grande parte do material de herbário observado apresenta etiquetas com os dizeres "rara", "escassa" ou "apenas um indivíduo"; além disso, poucas foram as vezes em que se observaram, em campo, populações extensas ou com muitos indivíduos.

Além do padrão único de ornamentação dos grãos de pólen, as espécies de *Calolisianthus* não apresentam sinapomorfias exclusivas que o caracterizem. Entretanto, poucos são os gêneros e espécies de Helieae que apresentam distribuição geográfica semelhante ou igual a das espécies de *Calolisianthus*, o que permite fácil identificação das plantas encontradas no Brasil. Somente seis gêneros da tribo, além de *Calolisianthus*, ocorrem no leste brasileiro: *Chelonanthus*, *Helia*, *Macrocarpaea*, *Prepusa*, *Senaea* e *Tetrapollinia*. *Tetrapollinia* é o gênero-irmão de *Calolisianthus* (vide capítulo 3 da presente Tese) e, apesar de apresentar flores lilases a alvas como algumas espécies de *Calolisianthus*, diferencia-se deste último pelo porte herbáceo, diminuto e delicado, sem lenhosidade na base; além disso, a única espécie de *Tetrapollinia* ocorre em áreas brejosas, onde não se encontra *Calolisianthus*. Também ocorrem em áreas brejosas as espécies de *Helia*, cujas corolas hipocrateriformes e de tubo muito estreito apresentam coloração creme a amarelo-esverdeadas. Quatro espécies de "Chelonanthus de flores verdes" (*Ch. candidus*, *Ch. grandiflorus*, *Ch. matogrossensis* e *Ch. viridiflorus*), além de ocorrerem em áreas brejosas, podem ser encontradas em áreas mais campestres, como as espécies de *Calolisianthus*; entretanto, diferem destas últimas pelo porte herbáceo sem crescimento secundário, e pela cor alva ou creme a esverdeada da corola e das folhas membranáceas. Além disso, tanto as espécies de *Helia* quanto essas quatro espécies de *Chelonanthus* apresentam botões florais com ápice arredondado. *Chelonanthus purpurascens*, assim como *Calolisianthus*, ocorre em áreas campestres e apresenta botões florais com ápice agudo e corola lilás; entretanto, a presença de folhas membranáceas em *C. purpurascens*, bem como sua ocorrência, em geral, em solos mais úmidos e próximos a cursos de água, permite a diferenciação em relação a *Calolisianthus*, posição sustentada por estudos filogenéticos (Calió & al., em prep., Cap. 3). As espécies de *Macrocarpaea* ocorrem apenas em vegetações florestais e apresentam folhas pecioladas. Por fim, *Prepusa* e *Senaea* diferem de *Calolisianthus* por possuírem flores hexâmeras, com cálice membranáceo e inflado. Além dessas, convém mencionar duas espécies que foram tradicionalmente tratadas

como *Calolisianthus*, mas que estão sendo excluídas desse gênero com base nos estudos filogenéticos: *C. amplissimus* e *C. acutangulus* (vide seção “Tratamento taxonômico”). Essas espécies apresentam corola lilás como *C. speciosus*, mas diferenciam-se desta última principalmente pela ausência de crescimento secundário, pelo caule alado, pela ausência de nectários extra-florais na base das folhas e pelos grãos de pólen liberados em políades.

Distribuição geográfica. — Infelizmente, apesar de se ter alcançado um mapeamento virtualmente completo da distribuição dessas espécies, não é possível apresentar uma abordagem histórica quanto à ocupação das diferentes regiões, devido, principalmente, ao desconhecimento acerca das relações filogenéticas entre essas espécies. Entretanto, o relato sobre os padrões de distribuição encontrados corrobora e complementa relatos de padrões já observados e descritos para outros grupos de plantas (e.g. Giulietti & Pirani, 1988; Harley, 1988; Fiaschi & Pirani, no prelo).

Calolisianthus compreende 4 espécies, todas endêmicas do Brasil. Ocorrem principalmente em áreas de altas altitudes, de Santa Catarina ao Tocantins, com maior expressão nas serras mineiras, baianas e goianas, que correspondem largamente à “Província biogeográfica do Cerrado” *sensu* Cabrera & Willink (1980). Apesar da sobreposição das áreas de ocorrência, cada espécie apresenta um padrão de distribuição diferente. *C. bellissimus*, uma espécie nova, é a que tem endemismo mais restrito, sendo encontrada apenas na região do Ibitipoca e arredores (Fig. 8A; ver seção Tratamento Taxonômico para descrição da espécie). *C. pendulus* ocorre desde o Paraná até a porção sul (Minas Gerais) da Cadeia do Espinhaço (Fig. 9A). *C. pedunculatus* ocorre nas mesmas regiões que *C. pendulus*, mas estende-se à porção baiana da Cadeia do Espinhaço e às serras goianas (Fig. 8B). Essas três espécies são encontradas apenas em campos rupestres e, devido à disposição “insular” ou “em mosaico” dessa vegetação (Giulietti & Pirani, 1988) ou “em arquipélago” (Prance, 1994), apresentam distribuição disjunta entre os diferentes conjuntos de serras. Por outro lado, *C. speciosus*, além de ocorrer em campos rupestres, é encontrada também em cerrados e, provavelmente por essa razão, apresenta distribuição praticamente contínua, ocupando uma faixa desde a porção mais meridional das serras mineiras até as serras goianas (Fig. 9B).

Conservação. — Apenas *Calolisianthus bellissimus* pode ser categorizada como espécie ameaçada segundo os critérios da IUCN (2001). Entretanto, é importante ressaltar que as espécies de *Calolisianthus* muito raramente são encontradas em locais perturbados, e que já foram, inclusive, extintas em algumas localidades. Por exemplo, as coletas mais recentes de *C. pendulus* e *C. pedunculatus* no município de São Paulo datam da década de 70 e, atualmente, tais localidades estão completamente urbanizadas. Isso indica que,

apesar de não terem sido categorizadas diretamente como ameaçadas, as outras três espécies também possuem *status* de conservação preocupante, principalmente devido ao fato de ocorrerem em habitats ameaçados por atividades antrópicas e pouco protegidos por unidades de conservação (Klink & Machado, 2005). Estimativas sobre desmatamento dos cerrados (que também incluem as áreas campestres) prevêem perda total dessa vegetação em cerca de 20 anos, o que caracteriza esse bioma como gravemente ameaçado (Machado & al., 2004) e, indiretamente, classifica como ameaçadas as espécies endêmicas dessa formação vegetal. Particularmente, os campos rupestres, formação vegetal em que as quatro espécies são encontradas prioritária ou exclusivamente, destacam-se pelo grande número de espécies ameaçadas; dessa forma, áreas que apresentam essa formação vegetal também se caracterizam como áreas prioritárias para conservação e para desenvolvimento de estudos científicos (e.g. Costa & al., 1998).

Tratamento taxonômico

Calolisianthus Gilg in Engler & Prantl Nat. Pflanzenfam. 4(2): 99. 1895 – Tipo: *Calolisianthus speciosus* (Cham. & Schltdl.) Gilg²

Ervas com base lenhosa a subarbustos, glabros. *Caule* cilíndrico, 4-costado, raramente 4-alado. *Folhas* opostas, mais agrupadas na base do caule e tornando-se mais esparsas em direção ao ápice, verdes, glabras, carnosas, sésseis ou curto-pecioladas, margem inteira, plana, hialina; venação acródroma, nervuras primárias e secundárias conspícuas; nectários extra-florais na base da face abaxial, conspícuos ou pouco evidentes. *Inflorescência* terminal, cimeira dicásial ou flores solitárias; brácteas e bractéolas escamiformes ou foliares, com margem hialina; bractéolas 1 par por flor ou ausentes nas flores terminais da inflorescência. *Flores* diclamídeas, heteroclamídeas, 5-meras, raramente 4-meras ou 6-meras, actinomorfas, pediceladas. *Cálice* verde, urceolado, coriáceo, glabro; lobos levemente desiguais, com área glandular na região dorsal; prefloração imbricada; coléteres no interior do cálice. *Corola* rosa, vermelha, roxa a azulada ou lilás a alva, infundibuliforme, hipocrateriforme ou campanulada, geralmente com uma constrição na altura de inserção dos estames, alargando-se acima desse ponto, carnosas, glabras; prefloração contorcida. *Estames* 5, heterodínamos, inclusos, epipétalos, inseridos entre 1/10 e 1/3 da porção inferior do tubo da corola; filetes filiformes; anteras dorsifixas, sagitadas na base, agudas no ápice, com

² Lectótipo apresentado com base na proposta de nova lectotipificação do gênero (Calió & Pirani, em prep., Cap. 4.

apêndice estéril, recurvadas na antese; pólen liberado em tétrades. *Ovário* súpero, verde, estilete longo e delgado, achatado quando seco; estigma bilamelado, lobos estreitamente elípticos/oblongos a elípticos/oblongos; placentação parietal; óvulos numerosos. *Fruto* cápsula, unilocular, 2-valvar, sementes numerosas; cálice, corola e estilete persistentes.

Etimologia. — "*Calo*" é um prefixo de origem grega que significa "bonito". Sendo assim, *Calolisianthus* significa "*Lisianthus* bonito" (para discussões sobre a origem etimológica do nome *Lisianthus*, ver Struwe & Albert, 1998; e Zijlstra & al., 1999). Em 1839, ao cunhar a palavra *Calolisianthus*, Grisebach não explicitou a razão para escolha do nome, mas apresentou na descrição a frase "*floribus pulchre coloratis*" (flores belamente coloridas). Em 1845, em um novo tratamento, Grisebach descreveu as mesmas plantas com a frase "*floribus ... speciosis coeruleis v. coccineis*" (flores chamativas azuis ou vermelhas). Dessa forma, supõe-se que o prefixo "*calo*" refira-se mesmo à beleza das flores.

Chave para as espécies

1. Folha com nectários extra-florais conspícuos na base abaxial da lâmina, ápice geralmente arredondado (raramente agudo); ápice dos lobos do cálice arredondado; corola campanulada, lobos da corola com margem erosa e ápice arredondado 4. *C. speciosus*

1'. Folha com nectários extra-florais inconspícuos ou pouco conspícuos na base abaxial da lâmina, ápice geralmente agudo a acuminado (raramente arredondado); ápice dos lobos do cálice geralmente agudo a acuminado (raramente arredondado); corola infundibuliforme ou hipocrateriforme, lobos da corola com margem inteira a levemente sinuada e ápice agudo a acuminado.

2. Costelas caulinares pouco evidentes, confundindo-se com estrias verticais resultantes da desidratação, ou, quando evidentes, não alcançam o nó inferior; folhas sempre sésseis; corola rosa 1. *C. bellissimus*

2'. Costelas ou alas caulinares bastante evidentes e sempre alcançando o nó inferior; folhas sésseis ou curto-pecioladas; corola vermelha, roxa ou azulada.

3. Base da folha atenuada, arredondada ou cordada; corola vermelha, tubo (22–)30–70 mm compr.; filetes 10–45 mm compr., anteras creme a amarelas 2. *C. pedunculatus*

3'. Base da folha atenuada; corola roxa ou azulada, tubo 15.7–25(–36) mm compr.; filetes 4.3–12.5 mm compr., anteras alvas a róseas ou esverdeadas 3. *C. pendulus*

1. ***Calolisianthus bellissimus*** Calió & Pirani, **sp. ined.** – Tipo: "Brasil, Minas Gerais, Mun. Lima Duarte, Parque Estadual do Ibitipoca, beira da trilha do Morro do Cruzeiro", 20 Jan 2005, *M.F. Calió, L.M. Bezerra, L.G. Temponi, L.C.S. Assis, R.F. Monteiro & R.C. Forzza 87* – Holótipo: SPF!

Ervas lenhosas na base a subarbustos (mais freqüente), 40–70 cm alt. *Caule* 4–5.3 mm diâm. na base da planta, 1.3–5 mm diâm. abaixo das flores, internós 8–20 mm compr. na base, 11–130 mm compr. abaixo das flores; costelas 0.1–0.2 mm larg. *Folhas* sésseis, nectários extra-florais inconspícuos; lâmina estreitamente elíptica a elíptica, 33–73 × 8–24 mm, base atenuada a longamente atenuada, ápice agudo a acuminado; 1–2 pares de nervuras secundárias, nervuras terciárias inconspícuas. *Flores* 1–10; brácteas foliáceas ou escamiformes, estreitamente elípticas a elípticas, lanceoladas a largamente ovadas, 4.2–51 × 1.2–18.5 mm, base truncada ou atenuada a longamente atenuada, margem inteira, erosa ou levemente sinuada, ápice acuminado; bractéolas foliáceas ou escamiformes, estreitamente elípticas a elípticas, 4.5–25 × 1–10 mm, base truncada, margem inteira, erosa ou esparsamente denticulada, ápice agudo a acuminado; pedicelo 18–58 × 1–3 mm. *Cálice* 12.3–17 × 6–8.5 mm; tubo 2.5–7 mm compr.; lobos 5, estreitamente elípticos a elípticos, oblongos, ovados ou obovados, 7.5–12 × 3.8–6 mm, margem erosa, ápice agudo. *Corola* rosa, com guias de nectários alvescentes, ápice dos lobos alvescente a esverdeado, infundibuliforme, 50–59 mm compr., 3.1–4.8 vezes maior que o cálice; tubo 34–41 mm compr., 3.5–4.5 mm larg. na base, 3–5.8 mm larg. abaixo da inserção dos estames, 10–12 mm larg. no ápice; lobos 5, elípticos a largamente elípticos ou ovados a largamente ovados, 13–20.1 × 9–13 mm, margem plana, inteira a levemente sinuada, ápice agudo, raramente apiculado, apículo 0.8–1 mm compr. *Estames* 5; filetes verdes na base tornando-se alvos em direção ao ápice, 19–24 mm compr.; anteras alvas a creme, estreitamente oblongas, 5.6–6.7 × 1–1.5 mm, apêndice estéril 0.4–1 mm compr. *Ovário* estreito-ovóide a ovóide, 8–12 × 4.5–6 mm; estilete verde na base tornando-se alvo em direção ao ápice, 20–22 × 0.5–1.2 mm; lobos do estigma amarelados a esverdeados, estreitamente elípticos a elípticos, 4–6 × 1.3–2.5 mm. *Fruto* estreito-ovóide a ovóide, 21–24 × 7–10 mm. (Fig. 1, Fig. 5A-C).

Etimologia. — A escolha do epíteto específico baseou-se na bela aparência das flores, muito vistosas e chamativas.

Distribuição, habitat e conservação. — A espécie é encontrada em campos-rupestres, entre 1400 e 1600 m de altitude, principalmente na região do Parque Estadual do Ibitipoca e com uma ocorrência em São Tomé das Letras, em Minas Gerais (Fig. 8A). Devido à sua distribuição muito restrita, essa espécie é categorizada como "em perigo crítico" segundo os critérios da IUCN (2001).

Morfologia e fenologia. — Os espécimes de herbário analisados estavam todos identificados como *Calolisianthus pedunculatus* ou *C. pulcherrimus*. Entretanto, ao se observar em maior detalhe as características de tais materiais, bem como exemplares frescos, constatou-se a necessidade de tratá-los como uma espécie à parte. Difere das demais espécies desse gênero pela coloração rósea da corola com guias de nectários alvos, pelas costelas caulinares pouco evidentes e pela ramificação do caule na base da planta. É encontrada com flores e frutos praticamente o ano todo.

Parátipos. — BRASIL, MINAS GERAIS: Lima Duarte, arredores do P.F.E. de Ibitipoca, trilha que sai da portaria do Parque para o lado esquerdo, 9.ii.2001, *Forzza & al.* 1809 (SP!); Parque Estadual do Ibitipoca, Caminho Lagoa Seca, 13.i.1988, *Andrade & al.* 1107 (BHCB!); Lagoa Seca, 23.iii.1988, *Andrade & al.* 1141 (BHCB!); no caminho para o Morro do Cruzeiro, 30.xi.2004, *Bezerra & al.* 46 (SPF!); aceiro, na trilha para Cachoeirinha, 23.ii.1992, *Eiterer & Freiras* 87 (CESJ, MBM!); Lago das Miragens, 30.xi.1991, Lisboa s.n. (ESA!); próximo à gruta dos viajantes, 2.xi.1991, *Oliveira & Forzza* 44 (SP!); xii.2000, *Salimena* s.n. (CESJ!); beira da trilha do Pião, 20.i.2005, *Calió & al.* 88 (SPF!); 14.vii.2005, *Trovó & al.* 182 (SPF!); Pico do Peão, 28.ix.1970, *Braga* s.n. (RB!); 16.vii.1977, *Brüger* s.n. (CESJ, RB!); 26.ii.1977, *Coons & al.* 77-319 (VIC!); 13.v.1970, *Sucre & Krieger* 6785 (BR, CEN!, CEPEC, F, G, K, LIL, MBM!, MG, MO, RB!, U!, UEC!); Extremidade Norte, 24.iii.2002, *Valente & Araújo* 171 (CESJ, SP!); 29.ix.1970, *Braga & al.* 1896 (RB!); Perto da Gruta dos Viajantes, 12.iii.1994, *Forzza* s.n. (SPF!); v.1970, *Krieger* s.n. (CESJ!); 12.v.1970, *Krieger* s.n. (CESJ, ESA!, RB!); 16.vii.1977, *Márcio* s.n. (BHCB!); 30.ix.1970, *Marinho* s.n. (CESJ, MBM!, RB!); Próximo à mata dos ratos da Dodora, 18.xii.1986, *Souza & al.* s.n. (BHCB!, SPF!); 13.vii.1977, *Valle & al.* s.n. (VIC!); 24.iii.1995, *Tombolato* s.n. (IAC!). São Tomé das Letras, 24.iii.1995, *Tombolato* s.n. (IAC!).

2. ***Calolisianthus pedunculatus*** (Cham. & Schltdl.) Gilg in Engler & Prantl Nat. Pflanzenfam. 4(2): 99. 1895 = *Lisianthus pedunculatus* Cham. & Schltdl., Linnaea 1: 199. 1826 = *Lisianthus elegans* Mart. var. *simplex* Mart., Nov. Gen. sp. pl. 2(2): 98. 1827 = *Lisianthus elegans* Mart. var. *pedunculatus* (Cham. & Schltdl.) Griseb., Gen. et Sp. Gent., 187. 1839, nom. superfl. & illeg. = *Helia elegans* (Mart.) Kuntze, Revis. gen. pl. 2: 428. 1891 = *Irlbachia pedunculata* (Cham. & Schltdl.) Maas, Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. C. 88(4): 410. 1985 – Tipo: "Brasília, [Minas Gerais], Serra de Carassa", 2 Abril 1819, *Sellow* 1628 – Holótipo: B [destruído, foto F!]; lectótipo (aqui designado): K [imagem digitalizada da exsicata!]; HAL [imagem digitalizada da exsicata!], L!, W!

= *Lisianthus elegans* Mart. var. *robusta* Mart., Nov. Gen. sp. pl. 2(2): 98; tab. 177. 1827–
Tipo: "Brasil, Minas Gerais, M. Itambé, territ. Adamanti.", Maio, *Martius s.n.* – Lectótipo (aqui
designado): M [foto SPF!]; M(x2) [fotos SPF!].

= *Lisianthus pulcherimus* Mart., Nov. Gen. sp. pl. 2(2): 97; tab. 176. 1827, syn. nov. (non *L.*
pulcherrimus Donn.Sm. in Pittier Prim. fl. costaric. 2: 166. 1898) = *Helia pulcherrima* (Mart.)
Kuntze, Revis. gen. pl. 2: 428. 1891 = *Calolisianthus pulcherrimus* (Cham. & Schltld.) Gilg in
Engler & Prantl Nat. Pflanzenfam. 4(2): 99. 1895 = *Irlbachia pulcherrima* (Mart.) Maas, Proc.
Kon. Ned. Akad. Wetensch. C. 88(4): 410. 1985 – Tipo: "Brasil, Minas Gerais, Morro de V.
Ricca", *Martius* 1006 – Holótipo: M [foto SPF!].

= *Lisianthus tenuifolius* Spreng., Syst. veg. 4(2): 339. 1827 = *Helia tenuifolia* (Spreng.)
Kuntze, Revis. gen. pl. 2: 428. 1891 = *Lisianthus angustifolius* Mart., Nov. Gen. sp. pl. 2(2):
99; tab. 178. 1827, nom. illeg. (non *L. angustifolius* Kunth in Bonpland & Humboldt Nov. gen.
sp. 3: 181. 1819 [1818]) – Tipo: "Brasil, Minas Gerais, Serro Frio", s.d., *Martius* 1385 –
Holótipo: M [foto SPF!].

= *Calolisianthus pedunculatus* (Cham. & Schltld.) Gilg var. *damazianus* Beauverd, Bull. Herb.
Boissier ser. 2, 7: 146. 1907, syn. nov. – Tipo: "Brésil, Ouro Preto", Outubro 1904, *Damazio*
1480 – Holótipo G [imagem da planta escaneada!].

= *Calolisianthus kermesinus* Gilg in schedulae.

Ervas lenhosas na base a subarbustos, 20–100 cm alt. *Caule* 1.5–6.5 mm diâm. na base da
planta, 1.3–5 mm diâm. abaixo das flores, internós 10–55 mm compr. na base, 40–180 mm
compr. abaixo das flores; costelas 0.1–1 mm larg. *Folhas* sésseis ou curto-pecioladas,
pecíolo 0.5–3 mm compr., nectários extra-florais inconspícuos (raramente pouco
conspícuos); lâmina linear a orbicular, lanceolada a ovada ou obovada, 10–65 × 1–47 mm,
base atenuada, arredondada ou cordada, ápice agudo a acuminado ou arredondado,
raramente mucronado, múcron 0.2–0.3 mm compr.; 1–4 pares de nervuras secundárias,
nervuras terciárias conspícuas ou não, reticuladas. *Flores* 1–10; brácteas foliáceas ou
escamiformes, ovadas a largamente ovadas ou triangulares a largamente deltóides, 2.1–15
× 1–14 mm, base truncada, atenuada a longamente atenuada ou cordada, margem inteira,
ápice agudo a acuminado; bractéolas foliáceas ou escamiformes, estreitamente triangulares
a deltóides, 2–7.5 × 1.2–2.4 mm, base truncada ou atenuada, margem inteira, raramente
erosa, ápice agudo a acuminado; pedicelo 10–80 × 0.8–1.8 mm. *Cálice* 8–15 × 5–8 mm;

tubo 2–5 mm compr.; lobos 5, elípticos, oblongos, lanceolados a largamente ovados ou obovados, 5–9 × 2–6 mm, margem inteira, erosa ou levemente denticulada, ápice agudo a acuminado, raramente arredondado. *Corola* vermelha, com ou sem guias de nectários vináceos ou alvescentes a amarelados, às vezes com a base do tubo amarelada a esverdeada, ápice dos lobos amarelado a esverdeado, infundibuliforme ou hipocrateriforme, 33–76 mm compr., 3.5–5.8 vezes maior que o cálice; tubo (22–)30–70 mm compr., 2.3–4.5 mm larg. na base, 1.9–7 mm larg. abaixo da inserção dos estames, 4.5–23 mm larg. no ápice; lobos (4–)5, elípticos a largamente elípticos, ovados a largamente ovados ou triangulares a deltóides, 7–19.3 × 3.5–16 mm, margem plana, inteira a levemente sinuada, ápice agudo a acuminado, raramente apiculado, apículo 0.2–0.7 mm compr. *Estames* (4–)5; filetes amarelos a creme-esverdeados, 10–45 mm compr.; anteras creme a amarelas, estreitamente elípticas, estreitamente oblongas ou lanceoladas, 2.3–6 × 0.9–1.5 mm, apêndice estéril 0.25–0.6 mm compr. *Ovário* verde, estreita a largamente ovóide, 5.6–6.9 × 2.8–5 mm; estilete amarelado a esverdeado, 12–46 × 0.2–1 mm; lobos do estigma amarelados a esverdeados, estreitamente elípticos a elípticos ou estreitamente oblongos, 3–6.5 × 0.6–2 mm. *Fruto* estreito-ovóide a ovóide, 14–24 × 6–11 mm (Fig. 2, Fig. 6).

Etimologia e nomes populares. — Apesar de Chamisso e Schlechtendal (1826) não terem explicitado as razões para escolha do epíteto específico, presume-se que "*pedunculatus*" refira-se à longa e bastante distinta estrutura caulinar que sustenta as flores. Popularmente conhecida como genciana-da-terra (referido para *L. elegans*; Pio-Correa, 1926) e genciana-trombeta-vermelha (Fabris & Klein, 1971).

Taxonomia. — Dois fatores contribuíram para a sinonimizar, sob *C. pedunculatus*, as diferentes espécies antigamente reconhecidas, ambas apoiadas por vultosas amostras: a existência de espécimes com atributos morfológicos intermediários entre os extremos que as caracterizavam, e a fraca correlação entre as formas e a distribuição geográfica. A escolha do material do K como tipo nomenclatural de *L. pedunculatus* baseou-se no melhor estado de preservação desse exemplar. No protólogo de *L. elegans*, Martius (1827) não citou separadamente os materiais que correspondiam a cada variedade, entretanto, com base na descrição apresentada, é possível identificá-los. A escolha do material para lectotipificação deste nome baseou-se na flor em melhor estado de preservação e na semelhança com a ilustração apresentada juntamente com o protólogo. Os demais materiais correspondentes à variedade *robusta* apresentam etiquetas com informações diferentes das do material escolhido como lectótipo, citando apenas "Minas Gerais" ou "Brasil, Minas Gerais, V.R." como localidade de coleta; entretanto, ambas são, concordantes com o

protólogo. O nome *Lisianthus angustifolius* Mart. é ilegítimo, pois se trata de um homônimo posterior do nome *L. angustifolius* Kunth, publicado muitos anos antes, para designar uma espécie atualmente denominada *Chelonanthus angustifolius* (Kunth) Gilg.

Distribuição, habitat e conservação. — *C. pedunculatus* é encontrado em campos-rupestres, principalmente na Cadeia do Espinhaço (porções baiana e mineira), estendendo-se pela Serra da Mantiqueira e Serra do Mar (porções leste de São Paulo, Paraná e Santa Catarina). Ocorre também na região da Chapada dos Veadeiros (=Serra Geral do Paraná) e Serra Geral de Goiás, no Estado de Goiás, e na região da Serra da Ponte Alta, na porção mais ocidental de Minas Gerais (Fig. 8B). A altitude em que é encontrada varia entre 700 e 1850 m, sendo freqüentemente encontrada acima de 1000 m. Essa espécie não se enquadra em categorias ameaçadas segundo os critérios da IUCN (2001).

Morfologia e fenologia. — Pela circunscrição proposta pelo presente trabalho, essa espécie apresenta grande variedade morfológica de porte, forma das folhas e tamanho das flores. Entretanto, todas as plantas apresentam corola infundibuliforme de coloração vermelha. Floresce e frutifica praticamente o ano todo.

Material selecionado. — Aproximadamente 480 coleções analisadas (relação completa no Apêndice A). BRASIL, BAHIA: Abaíra, Catolés, Campo do Ouro Fino, 13°15'29.4"S 41°54'9.9"W, 18.ix.2007, *Loeuille & al.* 339 (SPF!); Barra da Estiva, Morro do Ouro, 19.vii.1981, *Giulietti & al.* CFCR 1309 (SPF!, U!); Lençóis/Palmeiras, Path to Fumaça fall, v.1992, *Alves & Becker* 4165 (RB!); Mucugê, Serra do Sincorá, NW face of Serra de Ouro, to the East of the Barra da Estiva, Ituaçu road, about 9 km S of Barra da Estiva, 13°42'S 41°16'W, 24.iii.1980, *Harley & al.* 20893 (K, SPF!, U!); Palmeiras, Serra dos Lençóis/Morro do Pai Inácio, ca. 14,5 km NW of Lençóis just N of the main Seabra-Itaberaba road, 12°27'S 41°28'W, 21.v.1980, *Harley & al.* 22311 (CEPEC!, U!); Piatã, encosta do morro do Santana, 8.vi.1992, *Ganev* 436 (HUEFS!, K, NY!, SPF!); Rio de Contas, caminho para o Pico das Almas, indo para Queiroz, 13°31'13"S 41°56'07"W, 2.iv.2004, *Pirani & al.* 5393 (SPF!). GOIÁS: Alto Paraíso de Goiás, Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros, próximo à sede do IBDF, próximo ao riacho José Jacó, 9.ii.1987, *Romanic Neto & al.* 634 (NY!, SP!); São Domingos, Serra Geral de Goiás, Rod GO-110, 18 km L de São Domingos., 15.v.2000, *Hatschbach & al.* 71159 (MBM!); São João d'Aliança, Serra Geral do Paraná, 4 km by road E of São João da Aliança, 24.iii.1973, *Anderson & al.* 7880 (NY, UBI!). MINAS GERAIS: Augusto de Lima, Serra do Cabral, ca. 12 km da cidade em direção à Fazenda Serra do Cabral, 18°00'40"S 44°19'41"W, 20.iii.1994, *Sakuragui & al.* CFCR 15269 (CHRB!, ESA!, SPF!); Belo Horizonte, Pico da Serra do Curral, 23.iii.1929, *Ducke s.n.* (RB!); Botumirim, Serra da Canastra, Caminho de Botumirim para Barra do Veado, 23.vii.1985, *Martinelli* 11283 (RB!); Brumadinho, Serra da Calçada (trecho da Serra da Moeda), Retiro das Pedras, à direita da estrada que vai da BR 040 ao Retiro, 20°08'S 44°13'W, 30.i.1990, *Martens* 278 (SPF!); Caeté, Serra da Piedade, s.d., *Claussen* 352 (NY!); Caldas, 14.i.1919, *Hoehne s.n.* (SP, SPF!); Catas Altas, Serra do Caraça, Caminho para Capelinha e Gruta Lourdes, 20°0.5'39"S 43°28'42"W, 28.i.2004, *Calió & al.* 65 (SPF!); Conceição do Mato Dentro, Parque Nacional da Serra do Cipó, Km 131, 12.iv.1994, *Castro s.n.* (HUFU, SPF!); Congonhas do Norte, Serra Talhada (setor nordeste da

Serra do Cipó), 6,8 km da estrada Congonhas do Norte - Gouveia, entrada a 3,7 km NW de Congonhas do Norte, estrada pelo alto da serra em local denominado localmente Retiro dos Pereiras, nascentes do Rio Preto, 18°48'26.5"S 43°45'15"W, 19.i.2007, *Calio & al. 174* (SPF!); Curvelo, Estrada para Diamantina, 18°36'24.7"S 43°53'52.9"W, 19.iii.2005, *Trovó & Ribeiro 133* (SPF!); Datas, Morro do Coko, 1 km do entroncamento para Diamantina., 24.iii.1986, *Mello-Silva & al. CFCR 9755* (CHRB!, SPF!); Diamantina, Estrada Diamantina - Conselheiro Mata, aproximadamente 2 km da estrada Diamantina Gouveia (BR 259). Lado esquerdo da estrada., 18°15'59.3"S 43°42'02"W, 17.vii.2006, *Lovo & al. 145* (SPF!); Formoso, Parque Nacional Grande Sertão Veredas, Cabeceira do Rio Preto, 15°12'07"S 45°50'50"W, 29.v.1999, *Oliveira & al. 1081* (IBGE, RB!, U!); Gouveia, Barro Preto, Torre Telemig, 29.xi.1985, *Hatschbach & Silva 50305* (MBM!); Grão-Mogol, próximo da saída na estrada para Francisco Sá, 7.i.1996, *Mello-Silva & al. CRCR 9016* (SP, SPF!); Itabirito, Pico do Itabirito, Serra dos Inconfidentes, 29.iii.1994, *Teixeira s.n.* (U!); Itacambira, Estrada Itacambira - Juramento, ca. 9 km de Itacambira, 17°02'45.1"S 43°20'58"W, 22.ii.2002, *Souza & al. 28165* (ESA!, SPF!); Itumirim, Serra da Bocaina, 29.vi.1987, *Shepherd & al. 19008* (UEC!); Itutinga, Estrada entre Lavras e São João del Rey, 7.iii.1995, *Souza & al. 7804* (ESA!, HUFU!, SPF!); Jaboticatubas, Serra do Cipó, Km 126 ao longo da rodovia Lagoa Santa - Conceição do Mato Dentro - Diamantina, 5.iii.1972, *Joly & al. 1048* (SP!, UEC!); Jequitinhonha, ca. 47 km ao sul de Pedra Azul, na estrada para Jequitinhonha, 16°22'S 41°03'W, 20.x.1988, *Harley & al. 25263* (F, MBM, SP, SPF!, U!); Joaquim Felício, Serra do Cabral, estrada pela Serra do Cabral, 17.iv.1981, *Rossi & al. CFCR 1178* (SPF!, U!); Lavras, Poço bonito, 14.v.1988, *Almeida s.n.* (SPSF!); Moeda, Serra da Moeda, 19.vi.1986, *Grandi & al. s.n.* (BHCB!); Morro do Pilar, a 22 km do Morro do Pilar, 31.vii.1979, *Shepherd 10212* (UEC!); Nova Lima, Lagoa Grande, 10.iv.1945, *Williams & Assis 6552* (US!); Ouro Branco, Serra do Ouro Branco, 9.iii.2005, *Temponi & al. 418* (SPF!); Ouro Preto, Parque Estadual do Itacolomi, entrada da Mata do Cibrão, 13.iii.2007, *Araújo & Coser s.n.* (VIC!); Poços de Caldas, Campo do Saco, 21°50'20"S 46°33'53"W, 13.i.1981, *Gouvea & al. 720* (UEC!); Rio Vermelho, Morro do Ambrósio, Pedra Menina, 31.iii.1985, *Giulietti & al. CFCR 7708* (SP!); Sabará, Gaya, 23.iii.1933, *Mello-Barreto 2795* (BHCB!); Santa Bárbara, Serra do Caraça, Cascatinha, SW de Catas Altas, 20°05'S 43°27'W, 14.v.1990, *Arbo & al. 4046* (K!); Santa Luzia, Serra do Cipó, Km 132, 2.ix.1933, *Mello-Barreto 2802* (BHCB!, F); Santana de Pirapama, Serra do Cipó - Serra Mineira, Fazenda Inhamé, 18°55'S 43°54'W, 21.iii.1982, *Pirani & al. CFSC 8023* (SPF!); Santana do Riacho, Serra do Cipó, Trilha para as "Velozias gigantes", 23.v.2007, *El Ottra & Versieux 15* (SPF!); Santo Antônio do Itambé, Morro do Pico do Itambé, 18°25'S 43°21'W, 4.iv.1982, *Rossi & al. CFCR 2995* (SPF!, U!); São Gonçalo do Abaeté, Rod. BR-365, km 261, 20.iii.1980, *Hatschbach 42799* (MBM!, U!); São Gonçalo do Rio Preto, Parque Estadual do Rio Preto, da casa de hóspedes a cascata do Ribeirão das Éguas e então por fim ao camping, 18°7'34"S 43°21'24"W, 8.iv.2000, *Lombardi & al. 3898* (BHCB!, RB!); São Tomé das Letras, Serra das Ninfas, Fazenda dos Correias, 21°45'45"S 45°01'37"W, 19.ii.2005, *Mello-Silva & Ferreira 2868* (CESJ, SPF!); Serro, Milho Verde, Estrada Diamantina - Milho Verde, afloramento rochoso ao lado esquerdo da estrada, ca. 3 km de Milho Verde, 4.iii.1999, *Feres & al. 99/42* (UEC!).

PARANÁ: Balsa Nova, Arredores do cemitério de Tamanduá, próximo à São Luiz do Purunã, 6.ii.1999, *Bassani 11* (UPCB!); Bocaiúva do Sul, 9.iv.1999, *Barbosa 251* (MBM!); Campina Grande do Sul, Araçatuba, i.1960, *Stellfeld 501* (US!); Carambeí, Rio São João, Castro, 17.xii.1965, *Reitz & Klein 17907* (US!); Jaguaraiava, Fazenda Cajuru, 18.i.1965, *Hatschbach & al. 12271* (MBM!); Mandirituba, BR 116, sentido Rio Grande do Sul-Mandirituba, 27.i.2004, *Farinaccio & al. 621* (SPF!, CHRB!); Ortigueira, Serra dos Mulatos, 17.i.1967, *Hatschbach 15711* (MBM!, MO); Palmeira, Fazenda Sta. Rita, v.1980, *Dombrowski 11916* (MBM!); Ponta Grossa, Vila Velha, 25.i.1910, *Dusén 9112* (S!); São Jerônimo da Serra, 3 km ao N da cidade, 23.ii.1957, *Hatschbach 3614* (MBM!); São José dos Pinhais, Rio Pequeno, 17.i.1969, *Hatschbach & Fontella 20800* (S!).

SANTA CATARINA: Campo Alegre, Morro do Iquererim, 9.i.1958, *Reitz & Klein 6083* (LP!, US!). SÃO PAULO: Campos do Jordão, Abernassia, 26.i.1935, *Kuhlmann s.n.* (SP!, SPF!); Itararé, Fazenda São Nicolau, 24°16'02"S 49°09'22.1"W,

22.v.1993, Souza & al. 3968 (ESA, SP!, SPSF!); São José do Barreiro, Parque Nacional da Serra da Bocaina, 20.ii.1998, Freitas & al. 430 (UEC!); São Paulo, Jaraguá, 1.iii.1923, Gehrt 4133 (SP!, SPF!).

3. ***Calolisianthus pendulus*** (Mart.) Gilg in Engler & Prantl Nat. Pflanzenfam. 4(2): 99. 1895 = *Lisianthus pendulus* Mart., Nov. Gen. sp. pl. 2(2): 94, tab. 172. 1827 = *Helia pendula* (Mart.) Kuntze, Revis. gen. pl. 2: 428. 1891 = *Irlbachia pendula* (Mart.) Maas, Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. C. 88(4): 410. 1985 – Tipo: "Brasil, Minas Gerais et São Paulo septent., Camanducaja", Fevereiro, *Martius* 651 – Lectótipo (aqui designado): M [foto SPF!]; M [foto SPF!].

Ervas lenhosas na base, raramente subarbustos, 9–64 cm alt. *Caule* 1–3 mm diâm. na base da planta, 0.6–3.6 mm diâm. abaixo das flores, internós 1.3–20 mm compr. na base, 40–157 mm compr. abaixo das flores; costelas 0.1–0.2 mm larg. *Folhas* sésseis ou curto-pecioladas, pecíolo 0.5–3 mm compr., nectários extra-florais inconspícuos (raramente pouco conspícuos); lâmina estreitamente elíptica a largamente elíptica, lanceolada a ovada ou obovada, 8–62 × 4.8–28 mm, base atenuada, ápice agudo a acuminado ou arredondado; 1–2 pares de nervuras secundárias, nervuras terciárias inconspícuas. *Flores* 1–3(–7); brácteas foliáceas ou escamiformes, estreitamente elípticas a elípticas ou lanceoladas a ovadas, 0.9–30 × 0.2–13 mm, base truncada ou atenuada, margem inteira, ápice acuminado; bractéolas foliáceas ou escamiformes, elípticas ou lanceoladas a ovadas, 3.2–13 × 0.9–4.8 mm, base truncada ou atenuada, margem inteira ou levemente denticulada, ápice agudo a acuminado; pedicelo 4.5–80 × 0.6–1.6 mm. *Cálice* 8–12.3 × 4–7.5 mm; tubo 1–4 mm compr.; lobos (4–) 5(–6), estreitamente elípticos a elípticos, estreitamente oblongos a oblongos ou lanceolados a ovados, 5.2–10 × 2.6–4.7 mm, margem inteira, erosa ou levemente denticulada, ápice agudo a acuminado. *Corola* roxa a azulada, com ou sem guias de nectários alvescentes, ápice dos lobos alvescente a esverdeado, infundibuliforme ou hipocrateriforme, 23–59 mm compr., 2.5–4.3 vezes maior que o cálice; tubo 15.7–25(–36) mm compr., 2.3–4 mm larg. na base, 1.5–4.5 mm larg. abaixo da inserção dos estames, 4.5–18.5 mm larg. no ápice; lobos (4–) 5(–6), estreitamente elípticos a largamente elípticos, oblongos ou lanceolados a ovados, 8–18 × 3.3–9 mm, margem plana, inteira a levemente sinuada, ápice agudo a acuminado, raramente apiculado, apículo 0.5–1.1 mm compr. *Estames* 4–6; filetes alvos a esverdeados, 4.3–12.5 mm compr.; anteras alvas a rosadas ou esverdeadas, estreitamente elípticas ou estreitamente oblongas, 1.4–4.3 × 0.5–1.5 mm, apêndice estéril 0.03–0.5 mm compr. *Ovário* verde, ovóide, 5.5–7.7 × 2.5–4.2 mm; estilete alvo-esverdeado, 7.5–18.2 × 0.5–0.9 mm; lobos do estigma alvo-esverdeados, estreitamente elípticos ou estreitamente oblongos, 4–7.8 × 0.8–2 mm. *Fruto* ovóide, 12.8–28 × 5.3–10 mm (Fig. 3, Fig. 5D-E).

Etimologia e nomes populares. — Martius (1827) não explicitou, no protólogo, as razões para escolha do epíteto específico, mas presume-se que "*pendulus*" refira-se à estrutura caulinar que sustenta as flores, um pouco flexuosa em alguns espécimes. É denominada popularmente de genciana-brasileira, genciana-do-Brasil, raiz-amarga (Pio-Correa, 1926) ou sininho (Cordeiro, 2005).

Taxonomia. — O material escolhido para lectotipificação apresenta flor em bom estado de preservação. Além disso, esse material havia sido selecionado como lectótipo por Groen e Maas, em 1985, durante estudo das Gentianaceae neotropicais – há uma etiqueta junto ao material indicando essa escolha, porém a lectotipificação nunca foi publicada.

Distribuição, habitat e conservação. — É encontrada em vegetações campestres, entre 1000 e 2100 m de altitude, principalmente na porção mineira da Cadeia do Espinhaço, e mais a oeste nas Serras da Canastra e da Ponte Alta. Também ocorre na Serra da Mantiqueira e Serra do Mar (nos estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro), estendendo-se ao leste do Paraná (Fig. 9A). Segundo os critérios da IUCN (2001), essa espécie não se enquadra na categoria “ameaçada”.

Morfologia e fenologia. — Essa espécie distingue-se das demais pelo porte frequentemente diminuto e pelas pequenas flores de cor roxa a azulada. Encontrada com flores e frutos o ano todo.

Material selecionado. — Aproximadamente 160 coleções analisadas (relação completa no Apêndice A). BRASIL, MINAS GERAIS: Aiuruoca, Serra do Papagaio, Vertentes Oeste da Serra, encostas dos Garcia, estrada para a Pousada do Lado de Lá, 22°01'46"S 44°41'23"W, 17.ii.2005, *Mello-Silva & Ferreira 2848* (CESJ!, CHRBI!, SPF!); Andradas, estrada de Andradas/Caldas e Pocinhos, 22.i.1981, *Shepherd & al. 12184* (UEC!); Antônio Carlos, Serra da Mantiqueira, 7.ii.1972, *Krieger 11470* (CESJ!, SPF!); Barão de Cocais, Cocais, Serra do Sarimpo, 13.i.1921, *Hoehne 4968* (SP!); Belo Horizonte, Serra do Curral, vii.1949, *Vidal s.n.* (R!); Bom Jardim de Minas, Torre da Embratel, 21.iii.1988, *Krieger & Brügger s.n.* (CESJ, ESA!); Caeté, Serra da Piedade, 19°49'7.6"S 43°40'44.1"W, 11.i.1996, *Souza & al. 10063* (ESA!, SPF!); Caldas, s.d., *Regnell 122* (SP!); Catas Altas, Serra do Caraça, caminho para a cascatinha, ca. 100 m após o estacionamento, 20°05'34"S 43°28'47"W, 20.iv.2006, *Pirani & al. 5483* (SPF!); Itabirito, 10.vi.1971, *Krieger 10614* (CESJ!); Lima Duarte, Parque Estadual do Ibitipoca, beira da trilha para Monjolinho - Lagoa Seca, perto do Monjolinho, 21°42'13"S 43°53'29"W, 18.i.2005, *Calíó & al. 86* (SPF!); Mariana, Área da Samarco, 10.xii.2000, *Brina s.n.* (BHCBI!); Moeda, Serra da Moeda, 1a estação de coleta, 19.xii.1989, *Grandi & Porto s.n.* (BHCBI!); Ouro Branco, Serra do Ouro Branco, atrás da torre da EMBRATEL, em frente à cidade de Ouro Branco, 19.i.2007, *Delgado & al. s.n.* (SPF!, VIC); Ouro Preto, Parque Estadual do Itacolomi, subida do morro para a Lagoa Seca, 13.iii.2007, *Araújo & Coser s.n.* (SPF!, VIC); Passa Quatro, Fazenda dos Martins, 25.iv.1948, *Barb. & Araújo 117* (RB!); Poços de Caldas, Morro do Ferro, 6.iii.1964, *Becker 292* (R!); Santa Bárbara, Caraça, Caminho de asfalto indo até ao encontro dos rios, 15.iii.1990, *Marcondes-Ferreira & al. 286* (SPFR!); São Roque

de Minas, Serra da Canastra PARNA, estrada para Sacramento, 3 km da sede administrativa, 12.xii.1996, *Kinoshita & Moreira 96-153* (UECI!). PARANÁ: Jaguaraiá, Fazenda Cajuru, 18.i.1965, *Hatschbach & al. 12267* (MBM, US!). RIO DE JANEIRO: Itatiaia, Serra Negra, 14.i.1936, *Sem coletor 2853* (RB!). SÃO PAULO: Campos do Jordão, Reserva do Horto Florestal, 19.vii.1983, *Giulietti & al. 1038* (SPF!); Franco da Rocha, Parque Estadual do Juqueri, ao lado direito da estrada, antes da torre de energia, região central do parque, 10.ii.2003, *Baitello & Peres 1451* (SPSF!); Ibiúna, ca. 2 km da estrada que sai à esquerda (sentido São Paulo-Ibiúna) da rodovia SP 250 km 63, 6.i.1999, *Cordeiro & al. 1850* (SP!); São Caetano do Sul, 21.i.1912, *Brade 5553* (SP!); São José do Barreiro, Serra da Bocaina, Rodovia estadual da Serra da Bocaina (SP221), km 26,5, 22°44'3.1"S 44°36'57.3"W, 7.ix.2007, *Serafim 25* (SPF!); São Paulo, Jabaquara, 2.v.1952, *Handro 300* (SP, SPF!).

4. ***Calolisianthus speciosus*** (Cham. & Schltdl.) Gilg in Engler & Prantl Nat. Pflanzenfam. 4(2): 99. 1895 = *Lisianthus speciosus* Cham. & Schltdl., *Linnaea* 1: 198. 1826 = *Helia speciosa* (Cham. & Schltdl.) Kuntze, *Revis. gen. pl.* 2: 428. 1891 = *Irlbachia speciosa* (Cham. & Schltdl.) Maas, *Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. C.* 88(4): 410. 1985 – Tipo: "Brasil", 1814-31, *Sellow s.n.* – Holótipo: B [provavelmente destruído]; Lectótipo (aqui designado): HAL [imagem digitalizada da exsicata!]; K(x2) [imagens digitalizadas da exsicatas!], P [imagem digitalizada da exsicata!].

= *Lisianthus alpestris* Mart., *Nov. Gen. sp. pl.* 2(2): 93, tab. 171. 1827 = *Helia alpestris* (Mart.) Kuntze, *Revis. gen. pl.* 2: 428. 1891 – Citação do tipo: "Brasil, Minas Gerais, Serra Morro, V. R. [Vila Rica]", Março, *Martius 690* – Holótipo: M [foto SPF!].

= *Lisianthus inflatus* Mart., *Nov. Gen. sp. pl.* 2(2): 93, tab. 174. 1827 – Tipo: "Brasil, Minas Gerais, Morro de V. R. [Vila Rica]", Março, *Martius 1153* – Lectótipo (aqui designado): M [foto SPF!]; M [foto SPF!].

= *Lisianthus ovatifolius* Vell., *Fl. flumin.* [texto]: 74. 1829; [Icones] 2: tab. 79. 1831 – Tipo: tab. 79 de *Fl. flumin.* – Lectótipo (aqui designado).

= *Calolisianthus macranthus* Gilg, *Bot. Jahrb. Syst.* 22: 346. 1896 – Tipo: "Brasil, Goyaz", 1842, *Gardner 3896* – Holótipo: B [destruído, foto F!]; lectótipo (aqui designado): K [imagem digitalizada das exsicata!]; E(x2) [imagens digitalizadas das exsicatas!], P [imagem digitalizada da exsicata!].

Ervas lenhosas na base a subarbustos (mais freqüente), 27–100 cm alt. *Caule* 1.7–6 mm diâm. na base da planta, 1.6–4.5 mm diâm. abaixo das flores, internós 6–47 mm compr. na base, 41–130 mm compr. abaixo das flores; costelas 0.3–0.4 mm larg. *Folhas* sésseis,

nectários extra-florais conspicuos; lâmina elíptica a largamente elíptica ou obovada, 8–68 × 6–43.6 mm, base atenuada, ápice agudo ou geralmente arredondado, raramente mucronados, múcron 0.1–0.7 mm compr.; 2–3 pares de nervuras secundárias, nervuras terciárias conspicuas ou não, reticuladas. *Flores* 1–30; brácteas foliáceas ou escamiformes, estreitamente elípticas a largamente elípticas, 8–23 × 6.5–18 mm, base atenuada, margem inteira, ápice agudo ou arredondado; bractéolas escamiformes, largamente ovadas a muito largamente ovadas ou curto-deltóides, 1.5–3.5 × 1.5–3 mm, base truncada, margem inteira, esparsamente erosa ou denticulada, ápice agudo ou arredondado; pedicelo 6.7–30 × 1.3–2.0 mm. *Cálice* 6–11 × 5–6.5 mm; tubo 2–5 mm compr.; lobos (4–)5, largamente ovados a depresso-ovados, 3–6.5 × 3.5–7 mm, margem inteira ou erosa, ápice arredondado. *Corola* lilás, raramente alva ou pálido-lilás, raramente com guias de nectários alvescentes, ápice dos lobos alvescente a esverdeado, campanulada, 31–100 mm compr., 3.7–6.6 vezes maior que o cálice; tubo 26–45 mm compr., 2–6 mm larg. na base, 6–9.5 mm larg. abaixo da inserção dos estames, 13–30 mm larg. no ápice; lobos (4–)5, largamente elípticos ou muito largamente ovados a depresso-ovados, 8.5–16 × 8–12 mm, margem ondulada, erosa, ápice arredondado, raramente apiculado, apículo 0.1–0.2 mm compr. *Estames* 5; filetes alvos a lilases, 11–30 mm compr.; anteras alvas, creme a amarelas, estreitamente elípticas, 6.3–8.7 × 1–1.5 mm, apêndice estéril 0.6–1.5 mm compr. *Ovário* verde, estreito-ovóide, 5.5–9 × 1.9–3.5 mm; estilete alvo a lilás, 12–30.5 × 1–2 mm; lobos do estigma alvos a lilases, estreitamente elípticos a elípticos, 4.5–6.5 × 2–2.5 mm. *Fruto* ovóide, 11–18 × 6–8 mm (Fig. 4, Fig. 7).

Etimologia e nomes populares. — Apesar de Chamisso e Schlechtendal (1826) não terem explicitado as razões para escolha do epíteto específico, presume-se que "*speciosus*" refira-se às grandes e vistosas flores. É popularmente denominada de genciana-da-terra (referido para *Lisianthus alpestris*; Pio-Correa, 1926).

Taxonomia. — Segundo Stafleu & Cowan (1976, 1985), os herbários que possuem coleções de Chamisso e Schlechtendal são, respectivamente, LE e HAL. Uma vez que não foram encontradas duplicatas do material-tipo em LE, optou-se por escolher o material de HAL para lectotipificação de *Lisianthus speciosus*. O espécime designado como lectótipo de *L. inflatus* foi escolhido por apresentar maior número de flores e por possuir uma porção do sistema subterrâneo. O outro espécime de *L. inflatus* encontrado apresenta, na etiqueta, informações diferentes daquela do material escolhido como lectótipo ("Brasil, Minas Gerais, Congonhas et Sabará"), mas coerentes com a descrição apresentada no protólogo. A exsicata selecionada como lectótipo de *C. macranthus* apresenta bom estado de

preservação. Além disso, duplicatas dos materiais examinados por Gilg encontram-se sabidamente no K (Stafleu & Cowan, 1976).

Distribuição, habitat e conservação. — Esse táxon encontra-se distribuído principalmente nas serras mineiras e goianas, com algumas ocorrências na porção baiana da Cadeia do Espinhaço e na Serra da Mantiqueira em São Paulo, além de dois registros do Tocantins (Fig. 9). Ocorre em campos rupestres e cerrados, em altitudes entre 700 e 1850 m, mas frequentemente acima de 800 m. Não é categorizada como ameaçada pelos critérios da IUCN (2001).

Morfologia e fenologia. — Essa espécie apresenta grande variação morfológica, mas caracteriza-se pelos nectários extra-florais bastante evidentes e pelas flores frequentemente numerosas, de forma campanulada e de coloração lilás. Pode ser encontrada com flores e frutos o ano todo.

Material selecionado. — Aproximadamente 400 coleções analisadas (relação completa no Apêndice A). BRASIL, BAHIA: Abaíra, Gerais do Pastinho, 4.vi.1992, *Ganev 413* (HUEFS!, K, NY!, SPF!); Barra da Estiva, estrada Barra da Estiva - Ituaçu, morro da antena de televisão, 13°41'29,8"S 41°19'5.1"W, 18.v.1999, *Souza & al. 22701* (ESA!); Érico Cardoso, Vereda, Estrada Capão - Vereda., 13°16'7"S 42°8'45"W, 5.vii.2001, *Roque & al. 581* (ALCB!, CEPEC!, HUEFS!); Rio de Contas, Morro ao lado direito logo antes da entrada da cidade, 13°35'22,0"S 41°48'28,8"W, 25.vii.2006, *Calió & al. 125* (SPF!). DISTRITO FEDERAL: Brasília, Área do Jardim Botânico, 5.vii.1990, *Azevedo & Brochado 770* (U!). GOIÁS: Água Fria de Goiás, Estação Repetidora da Telebrasil de Rocandor, 8.ii.1994, *Hatschbach & al. 60005* (MBM!); Alto Paraíso de Goiás, PARNA Chapada dos Veadeiros, estrada para a sede, 14°09'41"S 47°46'30"W, 15.viii.1995, *Marquete & al. 2291* (IBGE!); Anápolis, Rod. BR 153, 10 km de Anápolis, 22.v.1975, *Hatschbach 36674* (MBM, U!); Caldas Novas, Morro do Vulcão, Pousada do Rio Quente, 8.x.1986, *Kummrow 2824* (U!, US!); Campo Alegre de Goiás, Rod. BR-050, 25 km SE de Campo Alegre, 22.vi.1983, *Hatschbach & Kummrow 46587* (U!); Catalão, Rod. BR-050, km 233, divisa Catalão-Campo Alegre, 7.v.2000, *Hatschbach & al. 70581* (MBM!); Cavalcante, Vila Veneno, Rio São Félix km 4, 27.vi.2001, *Carvalho-Silva & Silva 53* (CEN, SPF!); Cocalzinho de Goiás, Serra dos Pirineus, estrada de acesso a Serra dos Pirineus, a ca. de 8 km de Cocalzinho, 28.v.1998, *Assis & al. 559* (SPF!); Colinas do Sul, Estrada Colinas - Serra da Mesa. 41 km de Colinas, cerca de 7 km após Vila Borba, 13°53'50"S 48°07'20"W, 24.vi.1999, *Walter & al. 4350* (CEN!, U!); Corumbá de Goiás, 9.vii.1895, *Macedo 3291* (US!); Cristalina, Rio Cristal, 44 km by road SE of Cristalina, 6.iv.1973, *Anderson & al. 8259* (NY!); Guarani de Goiás, Rodovia Brasília-Barreiras, 14 km norte do entroncamento de Posse (BR-020, km 243), 400 m cerrado adentro, perpendicularmente à rodovia, 14°00'59"S 46°13'56"W, 5.xii.2003, *Mello-Silva & al. 2309* (SPF!); Ipameri, Domiciano Ribeiro, 11.iv.1981, *Hatschbach 43789* (S!, U!); Luziânia, Jardim Marajoara, 6.iv.1991, *Melo & França 561* (UB!); Mimoso de Goiás, Morro do Cruzeiro próximo à cidade, 15°03'21"S 48°09'15"W, 13.iv.2002, *Fonseca & al. 3494* (IBGE!, RB, SP!); Minaçu, Reserva Serra da Cana Brava, 13°29'37"S 48°16'11"W, 8.vi.1995, *Afonso & al. 7* (UB!); Niquelândia, nas margens do rio Tocantinzinho, 13°59'S 48°18'W, 22.vii.1979, *Cavalcanti & Silva 1606* (U!); Padre Bernardo, Estrada de Brazilândia/Padre Bernardo à esquerda, na estrada de chão, 15°33'S 48°15'W, 7.v.1991, *Vieira 723* (CEN, NY!); Pirenópolis, cerca de 10 km de Pirenópolis em direção a Corumbá de

Goiás, 15°55'42"S 48°51'03"W, 14.vii.2000, *Souza & al. 23855* (ESA!, SPF!); Planaltina, a 17,8 km de Planaltina de Goiás (Brasillinha) - a 12 km da Chácara Massangana, a 1,5 km do rio Maranhão, em direção à Brasília, 16.vii.2000, *Fontella & al. 3391* (R!); Portelândia, Serra da Urtiga, Rodovia BR-364 Mineiros-Santa Rita do Araguaia, próximo ao posto Urtigão, 17°22'S 52°39'W, 6.vii.1996, *Pietrobon-Silva & al. 3345* (CTES!, MBM!, SJRP!); Posse, BR-020, Alvorada – Formosa, km 158, 17.viii.1990, *Cavalcanti & al. 817* (CEN, HUEFS!, SP!); São João d'Aliança, estrada pra Vãozinho, 9.ii.1994, *Hatschbach & al. 60253* (MBM!); Teresina de Goiás, a 15 km de Teresina de Goiás, do lado esquerdo na rodovia GO-118, 13°47'00,4"S 47°24'06,7"W, 16.vii.2006, *Calió & al. 103* (SPF!). MINAS GERAIS: Allfenas, estrada para ponte das amoras, 1.iii.1969, *Carauta 811* (GUA!); Alpinópolis, próximo à barragem de Furnas, 18.ix.1977, *Leitão Filho & Martins 5956* (UEC!); Augusto de Lima, a 32,5 km da ponte do rio da Onça, na estrada para Francisco Dummont, 17°45'S 44°12'W, 25.iii.2000, *Lima & al. 121* (SPF!); Baependi, Toca dos Urubus, 3.v.2002, *Ferreira & al. 42* (SP!); Barbacena, Pinheiro Grosso, vii.1944, *Vidal I-199* (R!); Belo Horizonte, Serra do Taquaril, 23.iii.1933, *Mello-Barreto 2825* (BHCB!); Botumirim, trilha para o Cruzeiro, na entrada da cidade pelo acesso a partir de Cristália, 16°51'26"S 43°0'46"W, 7.vii.2001, *Fiaschi & al. 846* (SP, SPF!); Brumadinho, Retiro das Pedras, 12.v.1990, *Cabral & Coelho s.n.* (BHCB!); Caeté, Alto do Serrote, 1.xii.1933, *Mello-Barreto 2858* (BHCB!); Carrancas, Cachoeira da Fumaça, 7.x.1998, *Kinoshita & al. 98-435* (UEC!); Catas Altas, Serra do Caraça, trilha para o Pico do Inficionado, 5.vi.2000, *Vasconcelos s.n.* (BHCB!); Caxambu, vii.1954, *Duarte 3836* (U!); Conceição do Mato Dentro, Serra do Cipó, 14.vi.1950, *Alvim & Oliveira s.n.* (VIC!); Congonhas, Serra do Espinhaço, RPPN da Ferteco (Companhia Vale do Rio Doce), beira da estrada que corta que corta a RPPN, 31.viii.2003, *Guarçoni & al. 572* (VIC!); Congonhas do Norte, 15-20 km ao Norte, 20.v.1989, *Hatschbach & Nicolack 52999* (MBM!, U!, US!); Curvelo, 3.vi.1999, *Tameirão Neto 3019* (BHCB!); Delfinópolis, Complexo do Claro, trilha para a Cachoeira do Claro, logo após a guarita, 10.vi.1999, *Fillietaz & al. 55* (SPF!, UEC!); Diamantina, estrada Diamantina-Biribiri, 5.vi.1985, *Barros 1122* (SP, SPF!); Entre Rios de Minas, iii.1970, *Krieger 8265* (CESJ, ESA!, SPF!); Formoso, Parque Nacional Grande Sertão Veredas., , 15°19'07"S 46°0'21"W, 20.v.1998, *Oliveira & al. 1047* (IBGE!, RB, U!); Funilândia, Estrada Funilândia/Jequituba, 12 km após Funilândia, lado direito da estrada, próx. à sede, 13.v.1987, *Marquete & al. 57* (HRB!, RB!); Gouveia, Km 604 da estrada Gouveia-Diamantina. ramo vicinal à esquerda, 18.vi.2000, *Costa & Fiaschi 196* (SPF!); Grão-Mogol, estrada de terra para Grão-Mogol, 21.viii.2004, *Pinna & al. 20* (SPF!); Ibiraci, estrada entre Franca/SP e Ibiraci/MG, próximo à divisa dos estados, 6.ix.1998, *Souza & al. 21164* (ESA!); Itabirito, 10.vi.1971, *Krieger 10659* (CESJ!); Itumirim, Serra da Bocaina, 29.vi.1987, *Semir & al. 19499* (UEC!); Jaboticatubas, Distrito de São José da Serra, estrada do rio Congo para a Lagoa Dourada, ca. de 15 km da rodovia Lagoa Santa - Conceição do Mato Dentro (MG 010), 19°25'6"S 43°39'4"W, 23.iv.2006, *Pirani & al. 5538* (SPF!); João Pinheiro, estrada João Pinheiro - Brasilândia de Minas, MG 181, 57,6 Km do trevo da BR-040, 17°17'21"S 46°5'12"W, 13.vii.2005, *Forzza & al. 4024* (RB, SPF!); Joaquim Felício, Serra do Cabral, estrada Joaquim Felício - Várzea da Palma, 3,4 km além da ponte sobre o Córrego da Onça, 17°43'36"S 44°11'11"W, 26.i.2004, *Calió & al. 51* (SPF!); Lagoa Grande, 16.iii.1935, *Cochran s.n.* (US!); Lavras, Serra da Bocaina, Antena-Lavras, 27.iii.1987, *DAC s.n.* (ESAL, UEC!); Moeda, Serra da Moeda, 19.vi.1986, *Grandi & al. s.n.* (BHCB!); Nova Lima, Morro do Chapéu, 23.ii.1980, *Grandi 200* (BHCB!); Olaria, São Domingos da Bocaina, 11.vii.1987, *Pires & al. 21-499* (ESA!); Ouro Branco, estrada entre Ouro Branco e o Morro do Gabriel, ca. 9 km de Ouro Branco, 20°29'20,6"S 43°39'49,1"W, 8.iii.1995, *Souza & al. 7914* (ESA!, HUFU!, SPF!); Ouro Preto, Pico do Itacolomi, 15.v.1983, *Moura & Vieira 423* (SPF!, VIC); Paraobeba, FLONA de Paraobeba, 15.iv.2003, *Valente & Meira Neto 1145* (VIC!); Passa Quatro, 29.iv.1929, *Samp. 6222* (R!); Passos, Fazenda Paredão (Usina Açucareira Passos), estrada entre Furnas e Passos, ca. 16 km do rio Turvo (em direção a Furnas), 1.vi.1996, *Souza & al. 11482* (BHCB, CESJ, CTES, ESA!, FUEL, HUEFS, M, MBM, RB, SPF!); Patos de Minas, 19.iv.1936, *Mello-Barreto 4501* (BHCB!); Patrocínio, Fazendas da Terra: Boa Vista, 14.vii.1998, *Farah & Freitas 357* (ESA!); Perdizes, Unidade de Conservação do Galheiro, Divisa com João Alonso, 24.v.1994, *Tameirão Neto & Werneck 1070* (BHCB!); Poços de Caldas, Morro

do Ferro, 21°50'20"S 46°33'53"W, 2.xii.1982, *Leitão Filho & al. 1878* (UEC!); Presidente Olegário, Fazenda Vereda Grande, 1.v.1989, *Grandi s.n.* (BHCBI); Quartel Geral, CAF Santa Bárbara Ltda., 8.vii.2005, *Raggi & al. 36* (VIC!); Sabará, estrada de Caeté, km 29, 12.iv.1933, *Mello-Barreto 2835* (BHCBI); Sacramento, 16 km da divisa SP/MG, 7 km do Ribeirão Canabrava em direção a Araxá, 6.vii.1996, *Souza & al. 12065* (ESA!); Santa Rita do Ibitipoca, 16.iv.1987, *Krieger 21427* (CESJ, ESA!); Santana do Garambéu, trecho do Alto Rio Grande, adjacente a zona urbana de Santa de Garambeu, 21°35'23.4"S 44°8'33.8"W, 7.vi.2001, *Salino & Mota 6995* (BHCBI); Santana do Riacho, 16 km do início da estrada para Santana do Riacho, saindo da estrada Lagoa Santa - Conceição do Mato Dentro (MG10), 19°07'9.7"S 43°41'53"W, 23.ix.2006, *Calió & al. 125* (SPF!); São Gonçalo do Rio Preto, Parque Estadual do Rio Preto, trilha do alojamento até o córrego das Éguas, 18°7'20"S 43°20'36"W, 19.ii.2002, *Lombardi 4571* (BHCBI); São João del Rei, São Sebastião da Vitória, 18.iv.1988, *Krieger & Brügger 25600* (ESA!); São Roque de Minas, Serra da Canastra, próximo à cachoeira do centro de visitante do Parque Nacional da Serra da Canastra, 15.v.2007, *Watanabe & al. 111* (SPF!); São Sebastião do Paraíso, 8.ix.1982, *Leitão Filho & al. 1878* (UEC!); São Tomé das Letras, 12.v.1989, *Waligora s.n.* (SPF!); Sete Lagoas, estrada Belo Horizonte-Brasília, Km 91- S. Lagoas, 15.vi.1967, *Silva 52* (RB!, RBR!); Três Marias, estrada para Pedras, 20 km de Três Marias, 18°5'38"S 45°10'38"W, 12.vii.2005, *Forzza & al. 4003* (RB, SPF!); Uberaba, 18 km north of Uberaba on highway BR-106, Stand 183, 6.vii.1967, *Goodland 3120* (UB!); Unaf, cerca de 50 m a Oeste do portão central da UHE Queimado, 16°12'56"S 47°19'32"W, 25.iii.2002, *Pereira-Silva & al. 6220* (CEN!). SÃO PAULO: Franca, 20°35'40"S 47°28'11"W, 28.iii.1997, *Harley & al. 28497* (SPF!); Pedregulho, Estreito, Usina de Estreito ("Acampamento de Estreito"), encosta à margem da represa, próxima ao antigo aeroporto, 20°9'52"S 47°16'23"W, 18.iii.2003, *Sasaki & al. 222* (SPF!); Rifaina, 14.iv.1981, *Leitão Filho & al. 12504* (SPF!, UEC!); São José do Barreiro, Parque Nacional da Serra da Bocaina, estrada para o Bairro dos Macacos, localidade Alto do Caçador, 20.iii.1999, *Freitas 651* (UEC!); São José dos Campos, ca. 8,5 km S of main plaza at São José dos Campos, 2.vi.1961, *Eiten & Eiten 2888* (SP!, US!); TOCANTINS: Ponte Alta do Tocantins, Córrego Fazendinha, 22.v.1984, *Hakme 17* (SPF!).

Espécies excluídas

1. *Calolisianthus amplissimus* (Mart.) Gilg in Engler & Prantl Nat. Pflanzenfam. 4(2): 99. 1895 = *Lisianthus amplissimus* Mart., Nov. Gen. sp. pl. 2(2): 96, tab. 175. 1827 = *Helia amplissima* (Mart.) Kuntze, Revis. gen. pl. 2: 428. 1891 = *Irlbachia amplissima* (Mart.) Maas, Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. C. 88(4): 410. 1985 – Tipo: "Brasilia, Prov. Minarum", s.d., *Martius s.n.* – Lectótipo (aqui designado): M [foto SPF!]; M [foto SPF!].

Nota: no herbário M foram encontrados 2 síntipos. Optou-se por lectotipificar o exemplar com maior número de flores e melhor estado de preservação. Essa espécie foi tratada como pertencente a *Calolisianthus* desde a criação deste gênero. Somente com os resultados dos estudos filogenéticos baseados em dados morfológicos e moleculares (Calió & al., em prep., Cap. 3), tornou-se evidente que essa espécie não era proximamente relacionada às demais espécies de *Calolisianthus*, mas sim a *Chelonanthus purpurascens*. Sendo assim, *C. amplissimus* será combinada em *Chelonanthus* (capítulo 6 da presente Tese).

2. *Calolisianthus acutangulus* (Mart.) Gilg in Engler & Prantl Nat. Pflanzenfam. 4(2): 99. 1895 = *Lisianthus acutangulus* Mart., Flora 21(2), Beibl. 4-5: 49. 1838, nom. illeg. (non *L. acutangulus* Ruiz & Pav., Fl. peruv. prodr. 1794) – Tipo: [Brasil, Mato Grosso], "Prope Cuiaba", s.d., *Martius 216* – Lectótipo (aqui designado) BR [foto SPF!]; BR [foto SPF!], E [imagem digitalizada da exsicata!], G [foto U!], K [imagem digitalizada da exsicata!], P [imagem digitalizada da exsicata!].

=*Lisianthus tetrago-alatus* Steud., Nomencl. bot. 2: 55. 1841, nom. nud.

Nota: A escolha do material para lectotipificação baseou-se em seu melhor estado de preservação. O nome *Lisianthus acutangulus* Mart. é ilegítimo, pois se trata de um homônimo posterior ao nome *Lisianthus acutangulus* Ruiz & Pavon, publicado anteriormente para designar uma espécie peruana, atualmente tratada como um sinônimo de *Chelonanthus alatus* (Aubl.) Pulle. O nome *L. tetrago-alatus* Steud. não foi validamente publicado, mas Steudel cita *L. acutangulus* Mart. como sinônimo de *L. tetrago-alatus*. Desde sua descrição, *L. acutangulus* Mart. foi tratada como pertencente ao gênero *Calolisianthus*. Somente com os resultados dos estudos filogenéticos baseados em dados morfológicos e moleculares (Calió & al., em prep., Cap. 3), tornou-se evidente que essa espécie não era proximamente relacionada às demais espécies de *Calolisianthus*, mas sim a *Chelonanthus purpurascens*. A legitimação desse nome e a combinação em *Chelonanthus* serão apresentadas em outro trabalho (capítulo 6 da presente Tese).

3. *Calolisianthus frigidus* (Sw.) Gilg in Engler & Prantl Nat. Pflanzenfam. 4(2): 101. 1895 = *Lisianthus frigidus* Sw., Prodr. 40. 1788 = *Helia frigida* (Sw.) Kuntze, Revis. gen. pl. 2: 428. 1891 = *Chelonanthus frigidus* (Sw.) Urb., Symb. Antill. 3: 334. 1902 = *Irlbachia frigida* (Sw.) Maas, Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. C. 88(4): 410. 1985 = *Wurdackanthus frigidus* (Sw.) Maguire & B.M.Boom, Mem. New York Bot. Gard. 51: 9. 1989 = ***Symbolanthus frigidus*** (Sw.) Struwe & K. Gould, Novon 14(3): 356-358, f. 1. 2004 – Tipo: Dominica "Incolit regionem muscosam montis la Soufriere Insulae Dominicae", s.d., *Ponthieu s.n.* – Holótipo: BM (n.v.); isótipo: S (n.v.).

4. *Calolisianthus imthurnianus* (Oliv.) Gleason, Bull. Torrey Bot. Club 56: 402. 1929 = *Lisianthus imthurnianus* Oliv., Trans. Linn. Soc. London, Bot. 2(2): 279. 1887 = ***Celiantha imthurmiana*** (Oliv.) Maguire, Mem. New York Bot. Gard. 32: 387. 1981 – Tipo: "Roraima", s.d., *F. im Thurn 306* – Holótipo K [imagem digitalizada da exsicata!].

5. *Calolisianthus tatei* Gleason, Bull. Torrey Bot. Club 58: 449. 1931 = *Lisianthus tatei* (Gleason) Steyerl., Fieldiana, Bot. 28(3): 498. 1953 = *Irlbachia tatei* (Gleason) Maguire, Mem. New York Bot. Gard. 32: 377. 1981 – Tipo: "Dry forest of savanna hills, flowers pink, summit of Mount Duida at 4400 ft", Agosto 1928 - Abril 1929, G.H.H. Tate 743 – Holótipo: NY [imagem digitalizada da exsicata!].

6. *Calolisianthus tepuiensis* Gleason, Brittonia 3: 188(-189). 1939 = *Macrocarpaea tepuiensis* (Gleason) Steyerl., Fieldiana, Bot. 28(3): 498. 1953 = *Rogersonanthus tepuiensis* (Gleason) Maguire & B.M. Boom, Mem. New York Bot. Gard. 51: 4, f. 3. 1989 – Tipo: Auyán-tepuí, 1800 m, Dezembro 1937, G.H.H. Tate 1361 – Holótipo: NY [imagem digitalizada da exsicata!].

Referências Bibliográficas

- Angely, J. 1965. *Flora analítica do Paraná*, vol. 7 *Coleção Saint-Hilaire*. Phytol, São Paulo.
- Angely, J. 1971 [1970]. *Flora analítica e fitogeográfica do Estado de São Paulo*, vol. 4. Phytol, São Paulo.
- Bell, A.D. 1991. *Plant Form: an illustrated guide to flowering plant morphology*. Oxford University Press, New York.
- Bouman, F., Cobb, L., Deventer, N., Goethals, V., Maas, P.J.M. & Smets, E. 2002. The seeds of Gentianaceae. Pp. 498–572 in: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae – Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Cabrera, A.L. & Willink, A. 1980. *Biogeografía de América Latina*. Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos. Washington, D.C.
- Calió, M.F. 2009. Gentianaceae. in: Neotropikey. Version 1, March 2009. Royal Botanic Gardens, Kew. <http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Gentianaceae.htm>, acessado em 20/julho/2009.
- Calió, M.F. & Pirani, J.R., em prep. Nova lectotipificação de *Calolisianthus* Gilg (Helieae – Gentianaceae). A ser submetido a *Taxon*.
- Calió, M.F., Pirani, J.R. Struwe, L. & Lepis, K.B., em prep. Estudo filogenético de Helieae (Gentianaceae) com ênfase nos limites genéricos de *Calolisianthus* Gilg, *Chelonanthus* Gilg e *Helia* Mart., baseado em dados moleculares e morfológicos. A ser submetido a *Molecular Phylogenetics and Evolution*.
- Chamisso, L.K.A. von & Schlechtendal, D.F.L. von. 1826. De plantis in expeditione speculatoria Romanoffiana observatis rationem dicunt Ad. de Chamisso et D. de Schlechtendal. *Linnaea* 1: 1–677.

- Cordeiro, I. 1983. Flora fanerogâmica da Reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (São Paulo, Brasil) – 133 – Gentianaceae. *Hoehnea* 10: 49–52.
- Cordeiro, I. 1987. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais. Gentianaceae. *Bol. Bot. Univ. de São Paulo* 9: 209–249.
- Cordeiro, I. 2004. Flora de Grão-Mogol Minas Gerais: Gentianaceae. *Bol. Bot. Univ. de São Paulo* 22(2): 137–140.
- Cordeiro, I. 2005. Gentianaceae. Pp. 211–222 in: Wanderley, M.G.L., Shepherd, G.J., Melhem, T.S., Giulietti, A.M. (eds.), *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*, vol. 4. FAPESP, São Paulo.
- Costa, C.M.R., Herrmann, G., Martins, C.S., Lins, L.V. & Lamas, I.R. 1998. *Biodiversidade em Minas Gerais: um atlas para sua conservação*. Fundação Biodiversitas, Belo Horizonte.
- Delgado, M.N. 2008. *Caracterização morfoanatômica de espécies de Gentianaceae em áreas de cerrado e campo rupestre em Minas Gerais*. Dissertação, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- ESRI, Environmental Systems Research Institute, INC. 2006. ArcGis – ArcView Desktop 9.2.
- Fabris, H.A. & Klein, R.M. 1971. Gentianaceae. Pp. 3–30 in: Reitz, P.R. (ed.), *Flora Ilustrada Catarinense*, parte 1, fascículo GENC. Herbário "Barbosa Rodrigues", Itajaí.
- Fiaschi, P. & Pirani, J.R. no prelo. Review of plant biogeographic studies in Brazil. *J. Syst. Evol.*
- Freitas, L. & Sazima, M. 2009. Floral biology and mechanisms of spontaneous self-pollination in five neotropical species of Gentianaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 160: 357–368.
- Gilg, E. 1895. Gentianaceae. Pp. 50–108 in: Engler, H.G.A. & Prantl, K.A.E. (eds.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, vol. 4(2). Verlag von Wilhem Engelmann, Leipzig.
- Giulietti, A.M. & Pirani, J.R. 1988. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil. Pp. 39–69 in: Vanzolini, P.E. & Heyer, W.R. (eds.), *Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns*. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.
- Grisebach, A.H.R. 1839 [1838]. *Genera et species plantarum*. J.G. Cotta, Stuttgart and Tübingen.
- Grisebach, A.H.R. 1845. Gentianaceae. Pp. 39–141 in: Candolle, A. de (ed.), *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*, vol. 9. Fortin, Masson, et Sociorum, Paris.
- Harley, R.M. 1988. Evolution and distribution of *Eriope* (Labiatae), and its relatives, in Brazil. Pp. 71–120 in: Vanzolini, P.E. & Heyer, W.R. (eds.), *Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns*. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.
- Harley, R.M. & Simmons, N.A. 1986. *Florula of Mucugê, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. A descriptive check-list of the campo rupestre area*. Royal Botanic Gardens, Kew.

- Harvey, Y.B. 1995. Gentianaceae. Pp. 321–327 in: Stannard, B.L. (ed.), *Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina–Bahia, Brazil*. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Hickey, L.J. 1979. A revised classification on the architecture of dicotyledonous leaves. Pp. 25–39 in: Metcalfe, C.R. & Chalk, L. (eds.) *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. 1. Ed. 2. Clarendon Press, Oxford.
- IUCN 2001. IUCN Red List categories and criteria. Version 3.1. IUCN, Gland, Switzerland & Cambridge, U.K.
- Klink, C.A. & Machado, R.B. 2005. A conservação do Cerrado brasileiro. *Megadiversidade* 1(1): 147–155.
- Kuntze, C.E.O. 1891. *Revisio generum plantarum*, vol. 2. Arthur Felix, Leipzig.
- Maas, P.J.M. 1985. Nomenclatural notes on neotropical Lisyrantheae (Gentianaceae). *Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch.*, ser C, 88: 405–412.
- Machado, R.B., Ramos Neto, M.B., Pereira, P.G.P., Caldas, E.F., Gonçalves, D.A., Santos, N.S., Tabor, K. & Steininger, M. 2004. *Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro*. Relatório técnico não publicado. Conservação Internacional, Brasília, DF.
- Maguire, B. 1981. Gentianaceae. Pp. 330–388 in: Maguire, B. & collaborators (eds.), *The Botany of the Guayana Highland – Part XI*. Memoirs of the New York Botanical Garden 32, Bronx.
- Maguire, B. 1985. Gentianaceae – part 2. *Phytologia* 57: 311–312.
- Maguire, B. & Boom, B.M. 1989. Gentianaceae – Part 3. Pp. 2–56 in: Maguire, B. & collaborators (eds.), *The Botany of the Guayana Highland – Part XIII*. Memoirs of the New York Botanical Garden 51, Bronx.
- Martius, C.F.P. von. 1827. *Nova genera et species plantarum quas in itinere per Brasiliam*, vol. 2, parte 2. V. Wolf, München.
- Nilsson, S. 2002. Gentianaceae – a review of palynology. Pp. 377–497 in: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae – systematics and natural history*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Pio-Correa, M. 1926. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das plantas cultivadas*, vol. 3, F–G. Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro.
- Prance, G.T. 1994. A comparison of the efficacy of higher taxa and species number in the assessment of biodiversity in the neotropics. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 345: 89–99.
- Pringle, J.S. 1995. Family 159A. Gentianaceae. Pp. 1–131 in: Harling, G. & Andersson, L. (eds.), *Flora of Ecuador*, vol. 53. Department of Systematic Botany, Gothenburg University, Göteborg.
- Progel, A. 1865. Gentianaceae. Pp. 198–248 in: Martius, C.F.P. von (ed.), *Flora Brasiliensis*, vol. 6, parte 1. Frid. Fleischer, Monachii.
- Radford, A.E., Dickson, W.C., Massey, J.R. & Bell, C.R. 1974. *Vascular plant systematics*.

- Harper & Row Publishers, New York, Evanston, San Francisco, London.
- Stafleu, F.A. & Cowan, R.S. 1976. *Taxonomic Literature: A selective guide to botanical publications and collections, with dates, commentaries and types*. 2nd much enlarged ed. v. 1. Bohn, Scheltema & Holkema, W. Junk b.v., Publishers, The Hague.
- Stafleu, F.A. & Cowan, R.S. 1985. *Taxonomic Literature: A selective guide to botanical publications and collections, with dates, commentaries and types*. 2nd much enlarged ed. v. 5. Bohn, Scheltema & Holkema, Utrecht/Antwerpen; Boston, W. Junk b.v., Publishers, The Hague.
- Struwe, L. & Albert, V.A. 1998. *Lisianthus* P.Br., its probable homonym *Lisyanthus* Aubl. (Gentianaceae) and the priority of *Helia* Mart. over *Irlbachia* Mart. as its substitute. *Harvard Pap. Bot.* 3(1): 67–71.
- Struwe, L., Albert, V.A., Calió, M.F., Frasier, C., Lepis, K.B., Mathews, K.G., Grant, J.R. 2009. Evolutionary patterns in neotropical Helieae (Gentianaceae): evidence from morphology, chloroplast and nuclear DNA sequences. *Taxon* 58(2): 479–499.
- Struwe, L., Kadereit, J., Klackenberg, J., Nilsson, S., Thiv, M., von Hagen, K.B. & Albert, V.A. 2002. Systematics, character evolution and biogeography of Gentianaceae, including a new tribal and subtribal classification. Pp. 21–309 in: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae – Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Struwe, L., Maas, P.J.M. & Albert, V.A. 1997. *Aripuana cullmaniorum*, a new genus and species of Gentianaceae from white-sands of southeastern Amazonas, Brazil. *Harvard Pap. Bot.* 2(2): 235–253.
- Weberling, F. 1989. *Morphology of flowers and inflorescences*. Cambridge University Press. New York.
- Zijlstra, G., Maas, P.J.M., Gandhi, K. 1999. On the nonexistence of *Lisyanthus* Aublet. *Harvard Pap. Bot.* 4(1): 289–292.

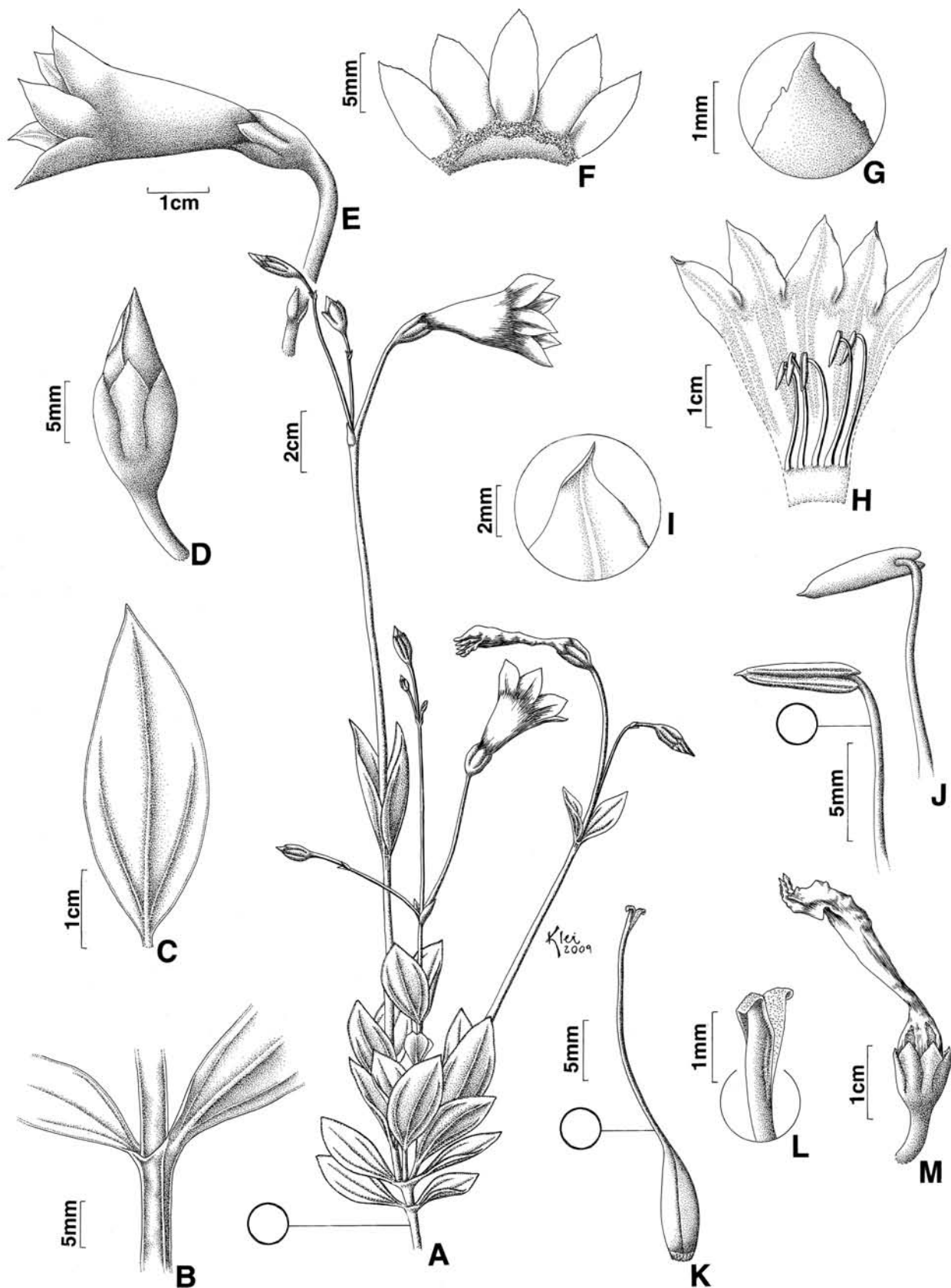


Fig. 1. *Calolisianthus bellissimus*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C, face abaxial da folha; D, botão floral; E, flor isolada, visão lateral; F, cálice rebatido, evidenciando coléteres na região interior; G, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; H, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; I, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; J, estames (faces abaxial e adaxial), com representação esquemática da seção transversal do filete; K, gineceu, com representação esquemática da seção transversal do estilete; L, detalhe do estigma; M, fruto com cálice e corola persistentes. Todos desenhados a partir de Calió & al. 87 (SPF).

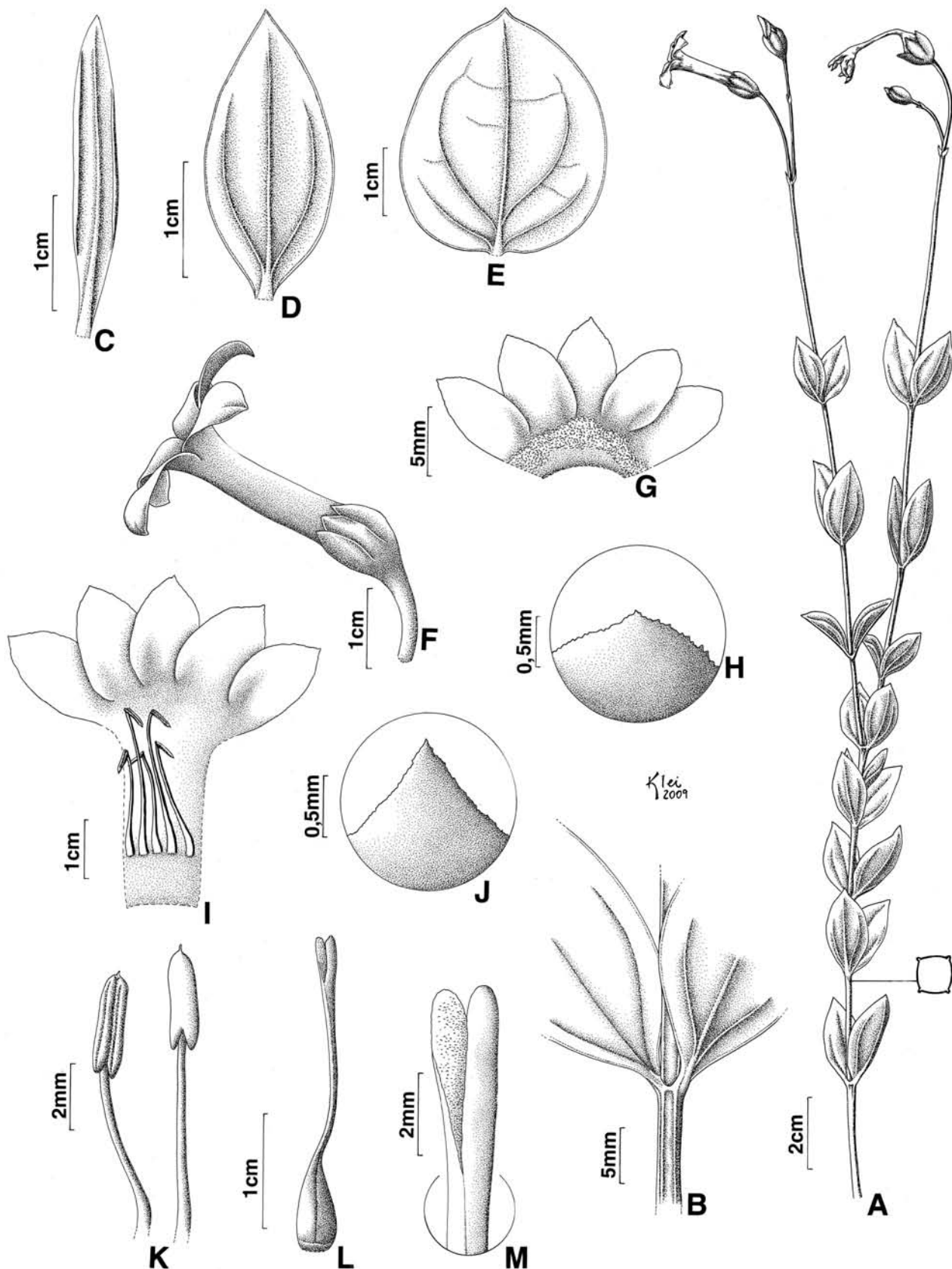


Fig. 2. *Calolisianthus pedunculatus*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C-E, variação foliar, face abaxial; F, flor, visão lateral; G, cálice rebatido, evidenciando coléteres na região interior; H, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; I, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; J, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; K, estames (visão abaxial e adaxial); L, gineceu; M, detalhe do estigma. Todos desenhados a partir de *Calió & al. 173* (SPF), exceto (C) de *Giulietti et al. CFCR 1319* (SPF) e (E) de *Lovo & al. 145* (SPF).

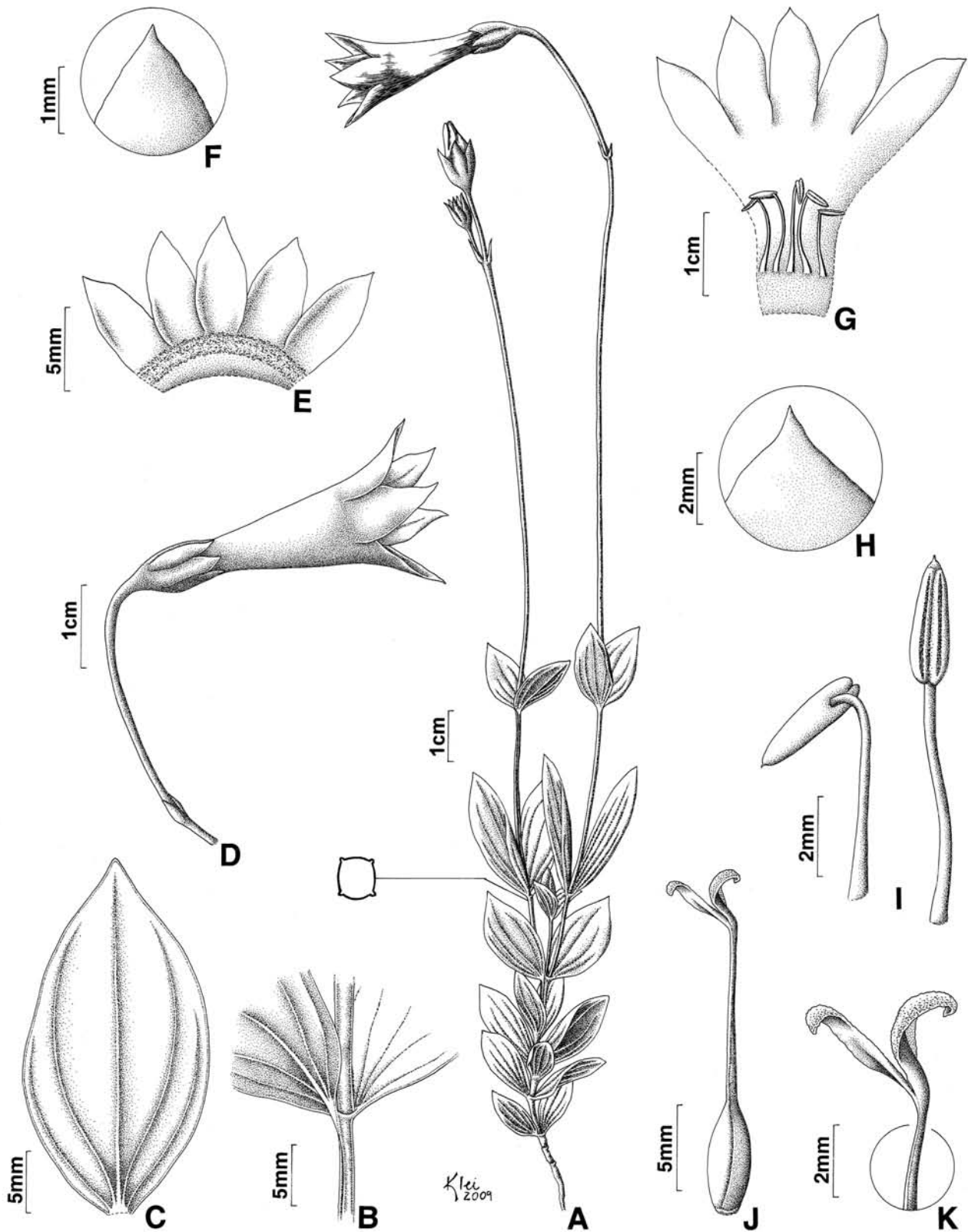


Fig. 3. *Calolisianthus pendulus*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C, face abaxial da folha; D, flor, visão lateral; E, cálice rebatido, evidenciando coléteres na região interior; F, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; G, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; H, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; I, estames (visão abaxial e adaxial); J, gineceu; K, detalhe do estigma. Todos desenhados a partir de Calió & al. 86 (SPF).

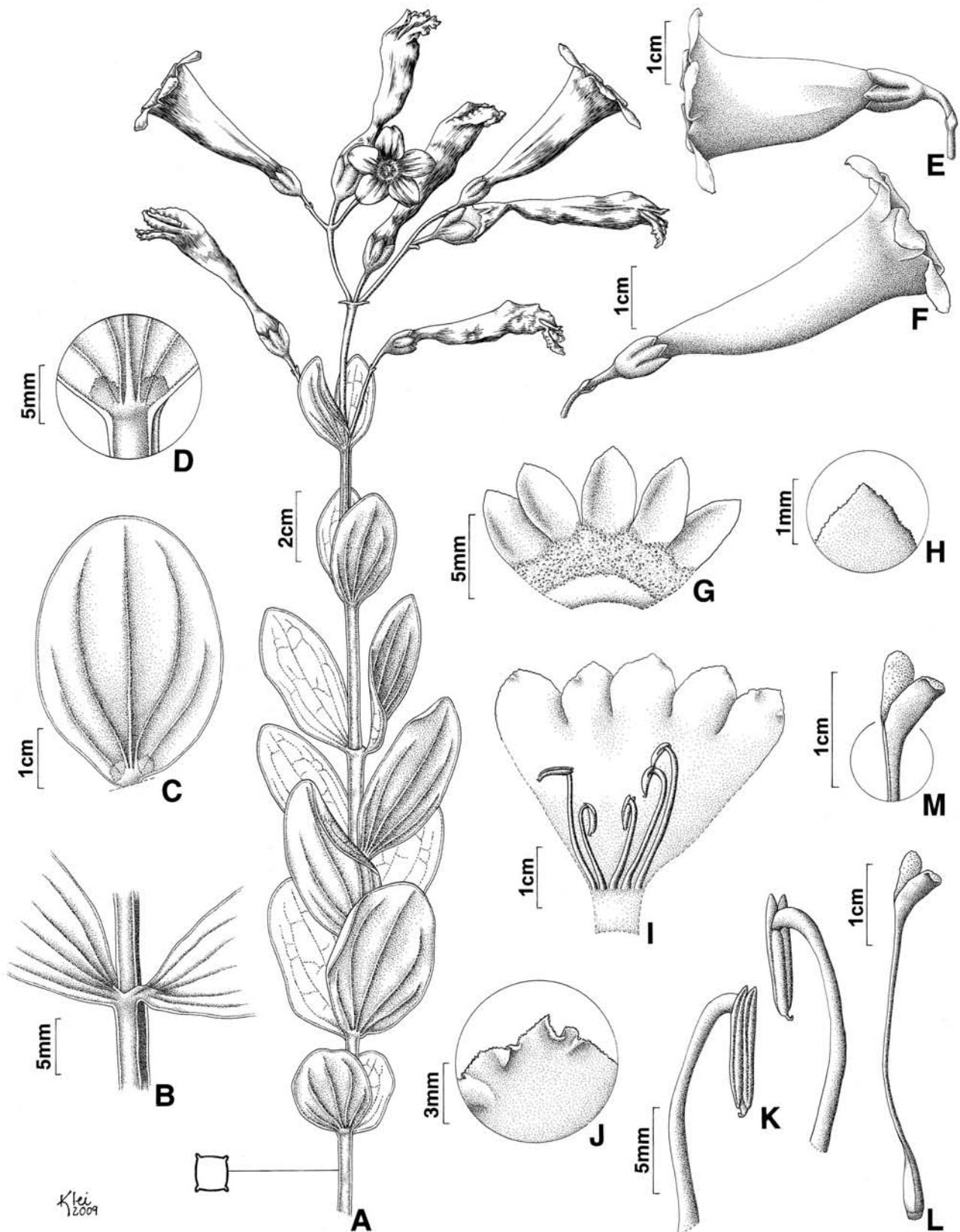


Fig. 4. *Calolisianthus speciosus*. **A**, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; **B**, detalhe do nó; **C**, face abaxial da folha; **D**, detalhe dos nectários extra-florais na face abaxial da folha; **E-F**, variação floral, visão lateral; **G**, cálice rebatido, evidenciando coléteres na região interior; **H**, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; **I**, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; **J**, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; **K**, estames (visão abaxial e adaxial); **L**, gineceu; **M**, detalhe do estigma. Todos desenhados a partir de *Watanabe & al. 116* (SPF), exceto (**A-D**) de *Calió & al. 105* (SPF) e (**F**) de *Calió & al. 109* (SPF).



Fig. 5. *Calolisianthus bellissimus*. A, hábito; B, flor, visão frontal; C, flor com corola rebatida. *Calolisianthus pendulus*. D, hábito; E, flor, visão frontal. Fotos: B-C, Lívia Temponi; demais, Maria Fernanda Calió.

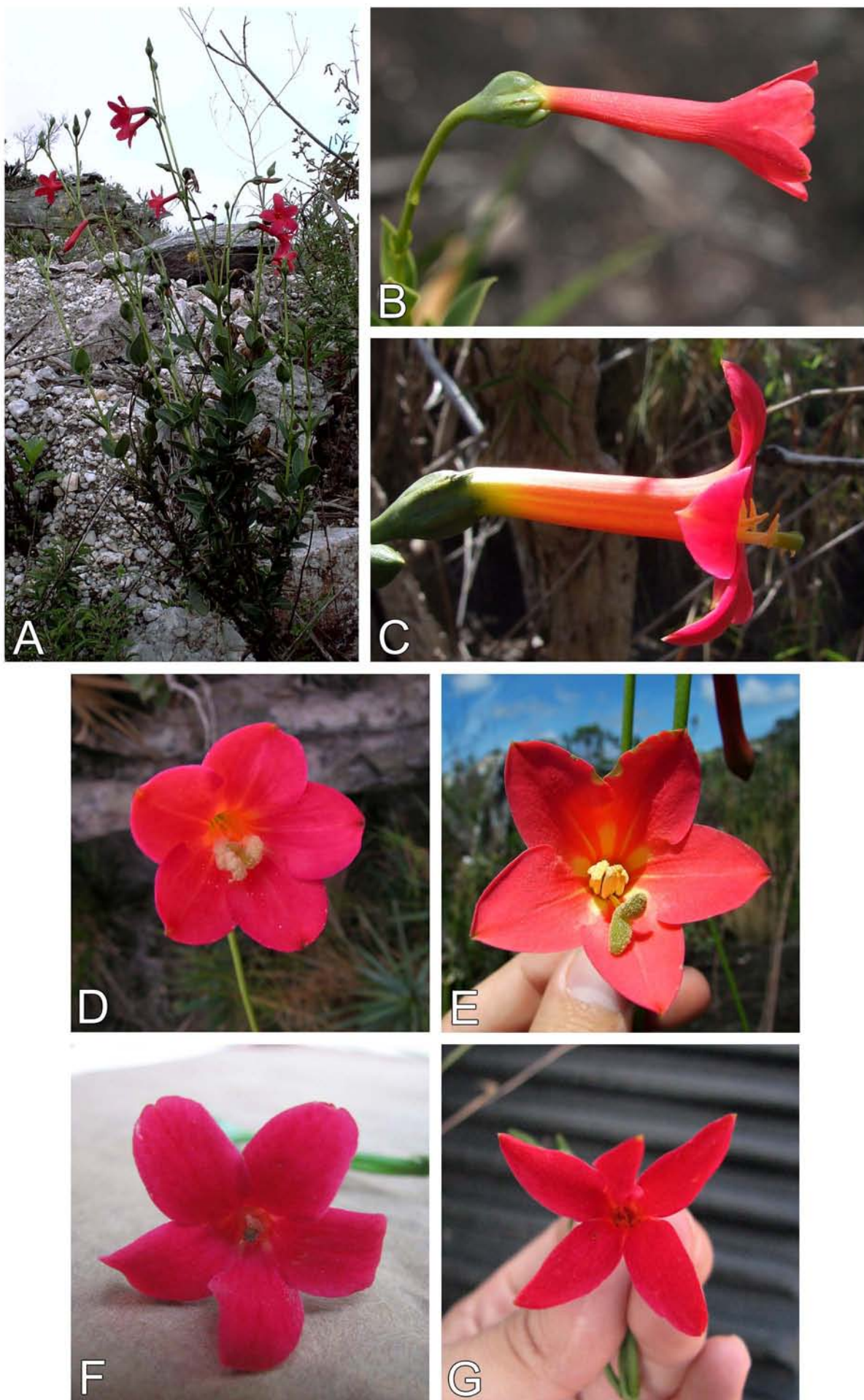


Fig. 6. *Calolisianthus pedunculatus*. A, hábito; B-C, variação floral, visão lateral; D-G, variação floral, visão frontal. Fotos: A, Katherine Lepis; B, Richard Winkworth; C, Lívia Echnacht; D, Juliana Lovo; E, Marcelo Trovó; F-G, Maria Fernanda Calió.

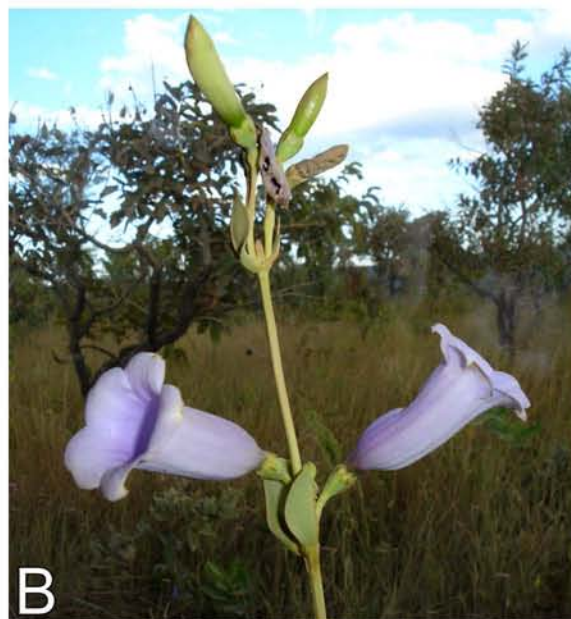


Fig. 7. *Calolisianthus speciosus*. A, hábito; B, inflorescência; C-D, variação floral, visão frontal. Fotos: A, Lia Bezerra; B-C, Benoît Loeuille; D, Marcelo Trovó.

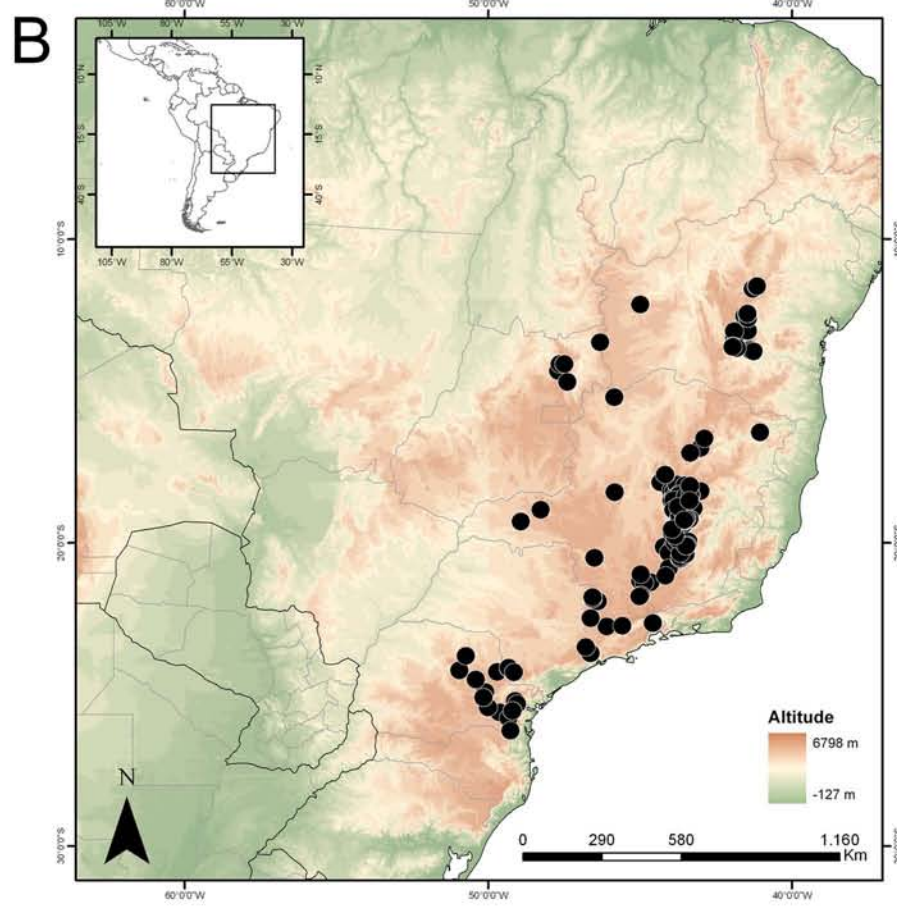
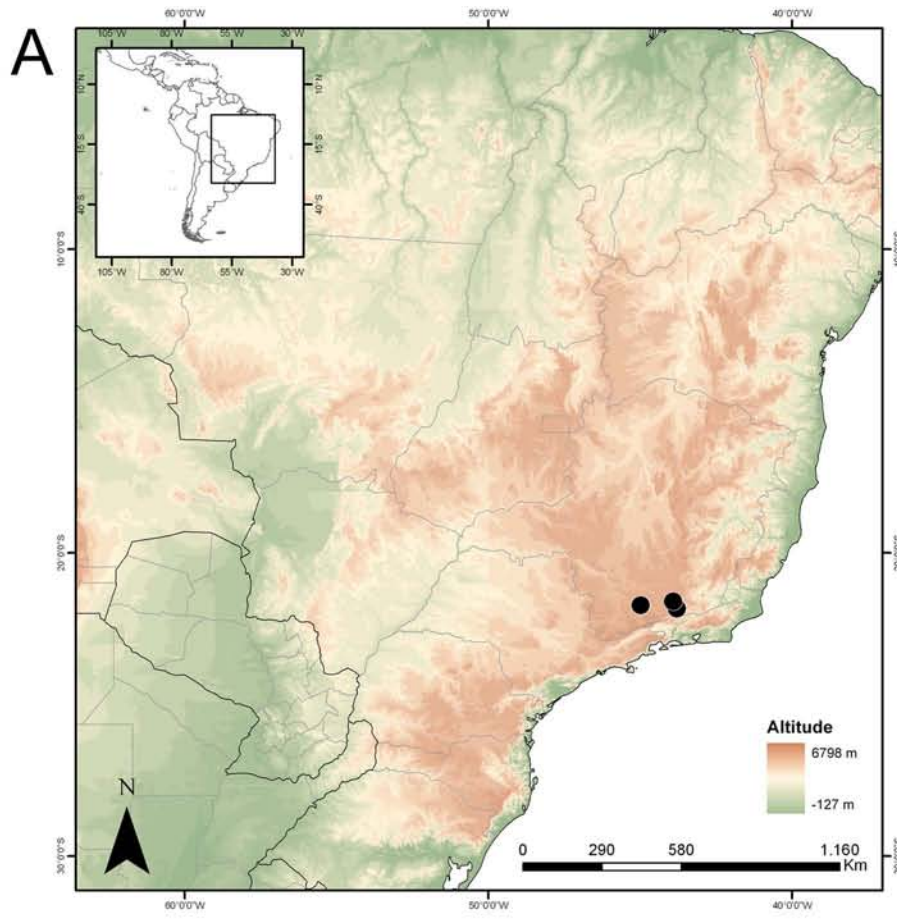


Fig. 8. Distribuição geográfica. A, *Calolisianthus bellissimus*; B, *Calolisianthus pedunculatus*.

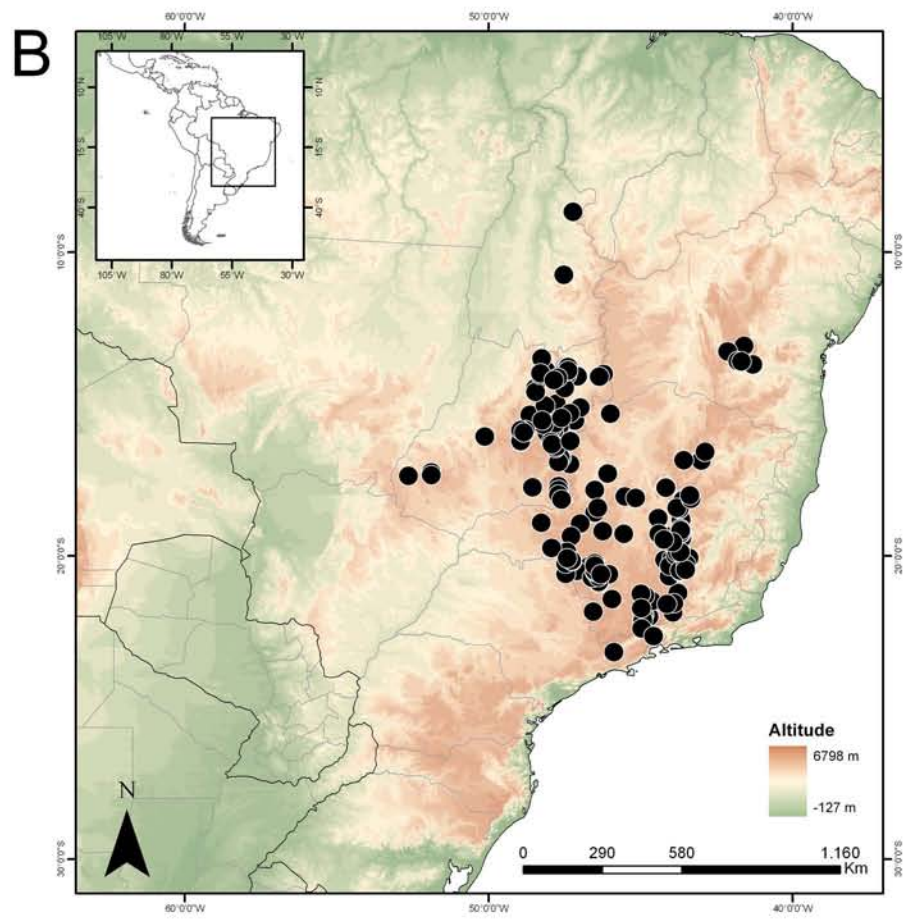
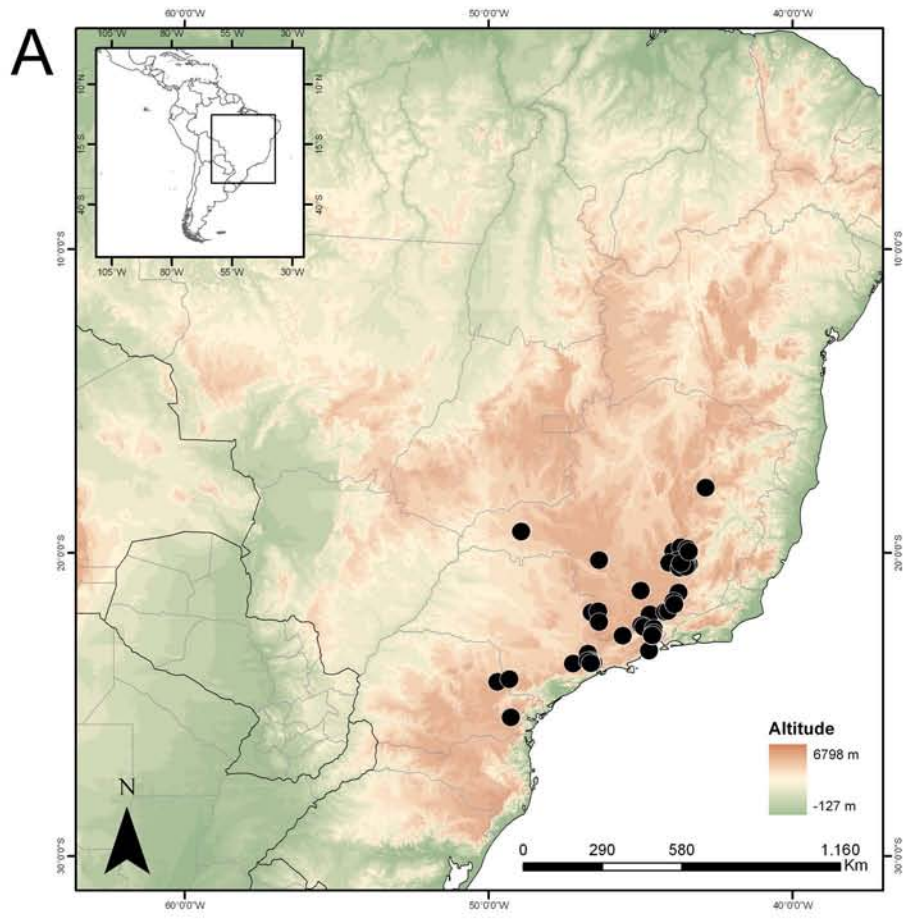


Fig. 9. Distribuição geográfica. A, *Calolisianthus pendulus*; B, *Calolisianthus speciosus*.

Apêndice A. Lista de exsicatas, indicando coletor e número, número da espécie no tratamento taxonômico e herbários. Negrito = espécimes-tipo; scan = imagem digitalizada da exsicata. *Calolisianthus bellissimus* = 1; *Calolisianthus pedunculatus* = 2; *Calolisianthus pendulus* = 3; *Calolisianthus speciosus* = 4.

Afonso & al. 7 (4) (UB!)

Almeida 128 (2) (HRB!)

Almeida 237 (2) (HRB!, RB!)

Almeida s.n. (2) (SPSF!)

Alves & Becker 4165 (2) (RB!)

Alves 228 (2) (R!, RB!)

Alvim & Oliveira s.n. (4) (VIC!)

Amaral & al. 16 (2) (SPF!)

Amorim & al. 2804 (2) (CEPEC, NY!, SP!)

Anderson & al. 6382 (2) (NY!, RB!, U!, UB!, US!)

Anderson & al. 6713 (2) (NY!, UB!)

Anderson & al. 7880 (2) (NY, UB!)

Anderson & al. 8259 (4) (NY!)

Anderson & al. 8519 (2) (NY!, UB!)

Anderson & al. 8521 (2) (NY!, UB!)

Anderson & al. 8952 (2) (NY!, SI, U!, UB!, US!)

Anderson & al. 9402 (4) (NY!¹, UB!)

Anderson & al. 10265 (4) (NY!, U!, UB!, US!)

Anderson & al. 35235 (2) (NY!, SPI, UB!)

Anderson & al. 36067 (2) (NY!, RB!, UB!, US!)

Anderson & al. 36349 (2) (NY, UB!)

Anderson & al. 36893 (2) (L!, NY!, RB!, U!, UB!)

Andrade & Emmerich 1085 (4) (R!)

Andrade & Emmerich 373 (4) (R!)

Andrade & Lopes 9118 (2) (U!)

Andrade & al. 1107 (1) (BHCB!)

Andrade & al. 1141 (1) (BHCB!)

Andrade s.n. (3) (BHCB!)

Araújo & Coser s.n. (2) (VIC! VIC19485)

Araújo & Coser s.n. (3) (SPF!, VIC)

Araújo & al. 282 (2) (ESA!)

Araújo & al. 283 (2) (ESA!)

Araújo s.n. (4) (UB!)

Arbo & al. 3958 (2) (CTES, SPF!)

Arbo & al. 3959 (2) (CTES, SPF!)

Arbo & al. 4046 (2) (K!)

Arbo & al. 4594 (2) (SPF!, CTES)

Arbo & al. 4859 (4) (CTES, SPF!)

Arbo & al. 5283 (2) (CTES, SPF!)

Archer & Mello-Barreto 4962 (2) (US!)

Assis & al. 559 (4) (SPF!)

Atala 162 (2) (R!)

Atala 170 (2) (R!)

Atala 216 (4) (R!)

Atala 224 (2) (R!)

Azevedo & Brochado 770 (4) (U!)

Azevedo & Dalvi s.n. (4) (VIC!)

Baitello & Peres 1451 (3) (SPSF!)

Baitello & Peres 1470 (3) (SPSF!)

Baitello 1519 (3) (SPSF!)

Barb. & Araujo 117 (3) (RB!)

Barbosa 251 (2) (MBM!)

Barbosa 1117 (3) (R!)

Barbosa s.n. (2) (R!)

Barros 1101 (2) (SP, SPF!)

Barros 1122 (4) (SP, SPF!)

Bassani 11 (2) (UPCB!)

Becker 292 (3) (R!)

Becker 368 (2) (R!)

Bezerra & al. 46 (1) (SPF!)

Bittencourt 99/9 (2) (UEC!)

Bittencourt Jr. 99/26 (4) (SPF!, UEC!)

Bordo 35 (3) (SP!)

Botelho & al. s.n. (2) (BHCB!, ESA!, U!)

Brade 5553 (3) (SP!)

Brade 5554 (3) (SP!, R!)

Brade 6133 (3) (SP!)

Brade 11828 (4) (R!)

Brade 12236 (3) (R!)

Brade 12975 (3) (RB!)

Brade 13260 (2) (RB!)

Brade 13398 (2) (RB!)

Brade 19633 (2) (RB!)

Brade 21069 (3) (RB!, U!)

Brade s.n. (2) (SP!)

Brade & Barbosa 17993 (3) (RB!)

Braga 209 (4) (BHCB!)

Braga & al. 1896 (1) (RB!)

Braga s.n. (1) (RB!)

Brina s.n. (3) (BHCB!)

Brüger s.n. (1) (CESJ, RB!)

Buzato & al. 31715 (2) (UEC!)

Cabral & Coelho s.n. (4) (BHCB!)

Caiafa & Meireles 109 (3) (VIC!)

Caiafa & Meireles 119 (4) (VIC!)

Caiafa 182 (4) (SPF!, VIC)

Calago 252 (4) (U!)

Caldas 10 (4) (IBGE!)

Calió & al. 15 (2) (SPF!)

Calió & al. 28 (2) (SPF!)

Calió & al. 39 (2) (SPF!)

Calió & al. 49 (2) (SPF!)

Calió & al. 51 (4) (SPF!)

Calió & al. 65 (2) (SPF!)

Calió & al. 86 (3) (SPF!)

Calió & al. 87 (1) (SPF!)

Calió & al. 88 (1) (SPF!)

Calió & al. 103 (4) (SPF!)

Calió & al. 105 (4) (SPF!)

Calió & al. 106 (4) (SPF!)

Calió & al. 109 (4) (SPF!)

Calió & al. 125 (4) (SPF!)

Calió & al. 125 (4) (SPF!)

Calió & al. 135 (4) (SPF!)

Calió & al. 148 (2) (SPF!)

Calió & al. 173 (2) (SPF!)

Calió & al. 174 (2) (SPF!)

Calió & al. 190 (2) (SPF!)

Calió & al. 209 (2) (SPF!)

Calió & al. 210 (2) (SPF!)

Calió & al. 216 (2) (SPF!)

Calió & al. 217 (2) (SPF!)

Calió & al. 222 (2) (SPF!)

Câmara & Filgueiras 9 (4) (U!)

Campos s.n. (2) (SP, SPF!)

Carauta 811 (4) (GUA!)

Carvalho 138 (4) (BHCB!, U!)

Carvalho-Silva & Silva 53 (4) (CEN, SPF!)

Castro 5 (2) (HUFU, UB!)

Castro 19 (4) (BHCB!)

Castro 36 (2) (HUFU, SP!)

Castro s.n. (2) (HUFU! HUFU 328)

Castro s.n. (2) (HUFU, SPF! HUFU 0156)

Castro s.n. (2) (HUFU, SPF! HUFU 5324)
Castro s.n. (2) (SP, SPF! SPF160453)
Cavalcanti & Silva 1250 (4) (CEN, ESA!)
Cavalcanti & Silva 1606 (4) (U!)
Cavalcanti & al. 578 (4) (CEN, SP!)
Cavalcanti & al. 817 (4) (CEN, HUEFS!, SP!)
Cavalcanti & al. 2577 (2) (CEN!, U!)
Cavalcanti & al. CFCR 8184 (4) (SPF!)
Cavalcanti & al. CFCR 8274 (4) (SPF!)
Cavalcanti & al. CFCR 9543 (2) (SPF!)
Cerati & al. 229 (4) (SP, SPF!)
Cervi & Hatschbach 2291 (2) (UPCB!)
Chaddad Jr. 18 (4) (ESA!)
Chaddad Jr. 91 (4) (ESA!)
Claussen 352 (2) (NY!)
Claussen s.n. (2) (NY!, P)
Cochran s.n. (4) (US!)
Conceição & Grillo 192 (2) (SPF!)
Coons & al. 77-319 (1) (VIC!)
Coons & al. 77-332 (3) (VIC!)
Coradim & al. 6403 (2) (CEN!, K!, U!)
Cordeiro & al. 426 (2) (SPF!)
Cordeiro & al. 439 (2) (SPF!)
Cordeiro & al. 1850 (3) (SP!)
Cordeiro & al. CFCR 9357 (2) (SPF!)
Cordeiro CFSC 7436 (4) (SPF!, U!)
Costa 72 (4) (R!)
Costa 312 (2) (RB!)
Costa & Barroso s.n. (2) (ALCB!)
Costa & Fiaschi 196 (4) (SPF!)
Costa & al. 102 (4) (SPF!)
Costa & al. 37 (2) (CHRB!, SPF!)
Crespo & al. 58 (2) (UEC!)
Cutler 8007 (4) (US!)
DAC s.n. (4) (ESAL, UEC!)
Dalcin & Farney 6 (2) (RB!)
Damazio 361 (2) (RB!, U!)
Damazio 1480 (G [scan!])
Damazio s.n. (3) (RB!)
Davis & Shepherd 59611 (4) (UEC!)
Davis & Shepherd 59674 (4) (UEC!)
Davis & Shepherd 60018 (4) (UEC!)
Davis 60116 (4) (UEC!)
Davis & al. 2389 (2) (UEC!)
Davis & al. 2524 (2) (UEC!)
Delgado & al. s.n. (3) (SPF!, VIC; VIC31361)
Delgado & al. s.n. (4) (VIC! VIC31360)
Delgado & al. s.n. (4) (SPF!, VIC; VIC31362)
Delgado & al. s.n. (4) (SPF!, VIC; VIC31363)
Delgado & al. s.n. (4) (SPF!, VIC; VIC31364)
Dias & al. 128 (4) (CEN, RB!, SP!)
Dombrowski 11916 (2) (MBM!)
Duarte 2156 (2) (U!)
Duarte 2435 (2) (RB!, U!)
Duarte 3836 (4) (U!)
Duarte 6457 (2) (RB!, U!)
Duarte 7574 (2) (NY!, RB!, U!)
Duarte 8107 (4) (RB!, U!)
Duarte 9917 (4) (RB, U!)
Duarte 10404 (2) (RB!, U!)
Duarte & Matos 8213 (4) (U!)
Duarte & Matos 8363 (4) (RB!, U!)
Ducke s.n. (2) (RB! RB19015)
Ducke s.n. (2) (RB! RB22399)
Dusén 2096 (3) (US!)
Dusén 2877 (2) (R!)
Dusen 3096 (2) (R!)
Dusén 9112 (2) (S!)
Dusen s.n. (2) (US!)
Dutilh & Marcondes-Ferreira 33 (3) (CESJ!, SPF!)
Edwall s.n. (2) (SP, SPF!)
Eiten & Eiten 2888 (4) (SP!, US!)
Eiten & Eiten 10970 (2) (US!)
Eiten & Eiten 10989 (2) (UB!, US!)
Eiten & Eiten 10994 (2) (K!, NY!, K!, SP!, UB!, US!)
Eiterer & Freitas 63 (3) (ESA!)
Eiterer & Freitas 87 (1) (CESJ, MBM!)
El Ottra & Versieux 15 (2) (SPF!)
Elias & Rolim 335 (3) (ESA!, HUFU)
Emygdio & al. 2333 (4) (R!)
Esteves & Kameyama 2480 (2) (RB!, SP!)
Farah & Freitas 357 (4) (ESA!)
Farah & Freitas 374 (4) (ESA!)
Farah & al. 956 (4) (ESA!)
Faria & Mazucato 45 (2) (SPF!)
Farinaccio & al. 302 (4) (SPF!)
Farinaccio & al. 315 (4) (HRCB, HUFU, SPF!)
Farinaccio & al. 334 (4) (HUFU, SPF!)
Farinaccio & al. 621 (2) (SPF!, CHRB!)
Farinaccio & al. 668 (2) (SPF!)
Farney 175 (3) (RB!)
Farney 665 (3) (RB!)
Felix 11 (4) (SPF!)
Feres & al. 99/42 (2) (UEC!)
Fernandes (A.Macedo 5748) (2) (US!)
Fernandes (A.Macedo 5751) (4) (US!)
Ferreira & Cunha 7881 (4) (CTES!)
Ferreira & Ferreira 74 (2) (CESJ, SP!)
Ferreira 20 (2) (CESJ, SP!)
Ferreira 152 (2) (CESJ!, SPF!)
Ferreira 3773 (4) (GUA!)
Ferreira & al. 42 (4) (SP!)
Ferreira s.n. (4) (UPCB, VIC!; VIC9343)
Ferreira s.n. (4) (SPF!, VIC; VIC9352)
Fiaschi & Costa 309 (2) (SPF!)
Fiaschi & al. 228 (3) (SPF!)
Fiaschi & al. 846 (4) (SP, SPF!)
Figueiredo 1 (2) (SP!)
Figueiredo 3 (2) (SP!)
Figueiredo 4 (2) (SP, SPF!)
Fillietaz & al. 55 (4) (SPF!, UEC!)
Fischer s.n. (3) (SP!)
Fonseca 52 (4) (RB!)
Fonseca & al. 1487 (4) (IBGE!, RB)
Fonseca & al. 1518 (4) (IBGE!)
Fonseca & al. 3494 (4) (IBGE!, RB, SP!)
Fontella & al. 3391 (4) (R!)
Forzza s.n. (1) (SPF!)
Forero & al. 7894 (2) (SP!)
Forzza & al. 699 (2) (SPF!)
Forzza & al. 757 (4) (SPF!)
Forzza & al. 920 (4) (CEN, SPF!)
Forzza & al. 1809 (1) (SP!)
Forzza & al. 2140 (2) (CESJ, SP!)
Forzza & al. 3084 (3) (RB, SPF!)
Forzza & al. 4003 (4) (RB, SPF!)
Forzza & al. 4024 (4) (RB, SPF!)
França & al. 992 (2) (HUEFS!)
França & Melo s.n. (4) (NY!, UPCB!)
Freire-Fierro & al. 3005 (4) (SPF!)
Freitas 264 (3) (UEC!)
Freitas 651 (4) (UEC!)
Freitas & Gajardo 520 (2) (SP!, UEC!)
Freitas & Sazima 80 (3) (UEC!)
Freitas & Sazima 81 (3) (SP!)
Freitas & al. 430 (2) (UEC!)
Furlan & Pirani CFSC 6219 (2) (SP!)
Furlan & Sajo CFSC 5962 (2) (SPF!)
Furlan & al. CFCR 2019 (2) (SPF!, U!)
Furlan & al. CFCR 3220 (2) (SPF!, U!)
Furlan & al. CFSC 8328 (2) (SP!)

Ganev 413 (4) (HUEFS!, K, NY!, SPF!)

Ganev 436 (2) (HUEFS!, K, NY!, SPF!)

Ganev 2795 (2) (HUEFS!, SPF!, NY!, UEC!)

Ganev 3311 (2) (HUEFS!, NY!, SPF!)

García & Bridgewater A482 (4) (UB!)

Gardner 3896 (4) (B [foto F!], E [2, scans!], P [scan!])

Gardner 5017 (2) (BM, NY!, US!)

Gardner s.n. (4) (NY!)

Gehrt 150 (2) (SP, SPF!)

Gehrt 4133 (2) (SP!, SPF!)

Gehrt s.n. (2) (SP, SPF! SPF160450)

Ghert s.n. (4) (SP, SPF! SPF160445)

Gibbs 4117 (2) (MBM!, SP!, UEC!)

Gibbs & al. 1772 (2) (UEC!)

Gibbs & al. 5050 (2) (UEC!)

Gibbs & al. 5073 (4) (MBM!, UEC!)

Gibbs & al. 5135 (4) (SP!, UEC!)

Gibbs & al. 5287 (2) (UEC!)

Giulietti & Menezes 3985 (2) (SP!, UEC!)

Giulietti & al. 1038 (3) (SPF!)

Giulietti & al. CFR 1309 (2) (SPF!, U!)

Giulietti & al. CFR 7708 (2) (SP!)

Giulietti & al. CFSC 12467 (4) (SPF!)

Giulietti & al. CFSC 12478 (2) (SPF!)

Giulietti & al. CFSC 7428 (4) (SPF!, U!)

Gondenberg & al. 26419 (3) (UEC!)

Goodland 344 (4) (NY!, U(2)!)

Goodland 3120 (4) (UB!)

Goodland 3154 (4) (UB!)

Gouvea & al. 720 (2) (UEC!)

Grandi & Andrade 1016 (2) (BHCB!, U!)

Grandi & Porto s.n. (3) (BHCB! BHCB16750)

Grandi & Porto s.n. (3) (U!)

Grandi & Tales 106 (3) (U(2)!)

Grandi & Tales 490 (3) (BHCB, U!)

Grandi 200 (4) (BHCB!)

Grandi 931 (4) (BHCB!)

Grandi 1467 (4) (BHCB!)

Grandi & al. 2250 (2) (BHCB!)

Grandi & al. s.n. (2) (BHCB! BHCB14259)

Grandi & al. s.n. (4) (BHCB!, U! BHCB 12477)

Grandi & al. s.n. (4) (BHCB! BHCB 12476)

Grandi s.n. (2) (BHCB! BHCB 8042)

Grandi s.n. (4) (BHCB! BHCB16696)

Grillo & Conceição 198 (2) (SPF!)

Grosso Jr. & al. 627 (2) (SPF!)

Grosso Jr. & al. 628 (2) (SPF!)

Guarçoni & al. 572 (4) (VIC!)

Guedes & al. PCD 1941 (2) (ALCB!, SP!)

Guimarães 82 (2) (SPSF!)

Hakme 17 (4) (SPF!)

Handro 81 (2) (SP!, SPF!)

Handro 300 (3) (SP, SPF!)

Harley & Sano 51294 (2) (CEPEC, HUEFS, K, SPF!)

Harley & al. 15674 (2) (K, NY!, US!, U!)

Harley & al. 19665A (2) (CEPEC!, KI, NY!, U!)

Harley & al. 20893 (2) (K, SPF!, U!)

Harley & al. 22311 (2) (CEPEC!, U!)

Harley & al. 22651 (2) (SPF!, U!)

Harley & al. 22957 (2) (K, SPF!, U!)

Harley & al. 24398 (2) (K, MBM, SPF!)

Harley & al. 24502 (2) (CEPEC!, HUEFS!, KI, MBM, SPF!, U!)

Harley & al. 25263 (2) (F, MBM, SP, SPF!, U!)

Harley & al. 28497 (4) (SPF!)

Harley & al. 52763 (2) (SP, SPF!)

Harley & al. 53327 (2) (HUEFS!, K, SP, SPF!)

Hashimoto 12782 (2) (MBM!)

Hatschbach 3614 (2) (MBM!)

Hatschbach 9799 (2) (MBM!)

Hatschbach 13519 (2) (F, MBM!)

Hatschbach 13991 (3) (BHCB!, MBM!, U!)

Hatschbach 15711 (2) (MBM!, MO)

Hatschbach 23466 (2) (NY!)

Hatschbach 27291 (2) (MBM!, U!)

Hatschbach 28762 (2) (U!)

Hatschbach 36674 (4) (MBM, U!)

Hatschbach 38714 (4) (MBM!, U!, US!)

Hatschbach 42782 (2) (MBM, SPF!)

Hatschbach 42799 (2) (MBM!, U!)

Hatschbach 43064 (4) (U!)

Hatschbach 43570 (2) (MBM!)

Hatschbach 43789 (4) (S!, U!)

Hatschbach 44659 (2) (MBM!, U!)

Hatschbach s.n. (2) (US!)

Hatschbach & Ahumada 31294 (2) (MBM!)

Hatschbach & Ahumada 31606 (2) (MBM!, NY!, U!)

Hatschbach & Cordeiro 52827 (3) (MBM!)

Hatschbach & Fontella 20800 (2) (S!)

Hatschbach & Guimarães 42415 (2) (MBM!, U!)

Hatschbach & Haas 13992 (2) (MBM!)

Hatschbach & Hatschbach 50947 (2) (CESJ!, HRB!, HUCS!, HXBH!, MBM!, U!)

Hatschbach & Kummrow 46587 (4) (U!)

Hatschbach & Nicolack 52999 (4) (MBM!, U!, US!)

Hatschbach & Ribas 52058 (2) (U!)

Hatschbach & Silva 50305 (2) (MBM!)

Hatschbach & al. 11501 (4) (US!)

Hatschbach & al. 12267 (3) (MBM, US!)

Hatschbach & al. 12271 (2) (MBM!)

Hatschbach & al. 36422 (2) (NY!, U!)

Hatschbach & al. 51176 (4) (MBM!, U!)

Hatschbach & al. 51178 (2) (U!)

Hatschbach & al. 59263 (4) (MBM!)

Hatschbach & al. 60005 (4) (MBM!)

Hatschbach & al. 60253 (4) (MBM!)

Hatschbach & al. 64273 (2) (MBM!)

Hatschbach & al. 64697 (4) (BHCB!, CESJ, CTES!, MBM!, U!)

Hatschbach & al. 64740 (2) (CTES!, MBM)

Hatschbach & al. 66330 (2) (BHCB!, ESAI, R!)

Hatschbach & al. 70581 (4) (MBM!)

Hatschbach & al. 70723 (4) (CTES!, MBM)

Hatschbach & al. 71159 (2) (MBM!)

Hauff 36 (3) (SP!)

Hensold CFSC 8550 (2) (SPF!)

Hensold & al. CFR 2873 (2) (SPF!, U!)

Hensold & al. CFR 2874 (3) (SPF!)

Hensold & al. CFR 2920 (3) (SPF!)

Heringer & Castellanos 22165 (2) (R!)

Heringer & Castellanos 6202 (2) (R!, RB!, UB!)

Heringer 3517a (4) (UB!)

Heringer 3659 (4) (UB!)

Heringer 4852 (4) (U!)

Heringer 5358 (4) (UBI)
Hoehne 3817 (2) (SP!)
Hoehne 4968 (3) (SP!)
Hoehne 5211 (2) (SP!)
Hoehne 6061 (4) (SP!)
Hoehne s.n. (2) (SP, SPF!
 SPF160459)
Hoehne s.n. (3) (SP, SPF!
 SPF160479)
Hoehne s.n. (3) (SP, UPCB!)
Hoehne s.n. (3) (SPFI, UPCB!
 SPF10712)
Hoehne s.n. (3) (SPFI SPF13733)
Hoehne s.n. (3) (SP, SPF!
 SPF160477)
Hoehne & Gehrt s.n. (3) (SP!)
Holway & Holway 1372 (2) (US!)
Horta & Andrade 171 (2) (U!)
Horta & al. 184 (4) (BHCB!, ESA!,
 MBM!, U!)
Horta & al. s.n. (2) (BHCB!)
Irwin & Soderstrom 5066 (4) (NY!, U!)
Irwin & Soderstrom 5271 (4) (NY!)
Irwin & al. 7811 (4) (NY!, US!)
Irwin & al. 10024 (4) (NY!)
Irwin & al. 10124 (4) (NY!)
Irwin & al. 12892 (2) (NY!, RB!, UI,
 US!)
Irwin & al. 14298 (4) (NY!, UI, UB!)
Irwin & al. 14451 (4) (NY!, UI, UB!,
 US!)
Irwin & al. 15370 (4) (NY!, US!, U!)
Irwin & al. 17862 (4) (NY!, UI, UB!)
Irwin & al. 18135 (4) (NY!, U!)
Irwin & al. 19632 (2) (NY!, RB!, UB!,
 US!)
Irwin & al. 19655 (4) (NY, UB!)
Irwin & al. 20027 (2) (UBI, LILI, NY!)
Irwin & al. 21828 (2) (NY!, RB!, UB!,
 US!)
Irwin & al. 22374 (4) (NY!)
Irwin & al. 22738 (2) (NY!, UB!)
Irwin & al. 24032 (4) (NY!, RB!, UB!,
 US!)
Irwin & al. 24363 (4) (NY!, UB!)
Irwin & al. 25338 (4) (NY, UB!)
Irwin & al. 27027 (4) (NY!, RI, UB!)
Irwin & al. 27135 (2) (NY!,SP!, UB!)
Irwin & al. 27466 (2) (LI, NY!, UB!)
Irwin & al. 28219 (2) (NY!, SI, UI, UB!)
Irwin & al. 28807 (3) (NY!,UB!, US!)
Irwin & al. 28916 (2) (UBI, NY!, US!)
Irwin & al. 29445 (3) (NY!, SP!, UI,
 UB!, US!)
Irwin & al. 29447 (3) (NY!, UI, UB!)
Irwin & al. 30432 (2) (NY! SP!, UI,
 UB!, US!)
Irwin & al. 32174 (2) (NY!, UI, UB!,
 US!)
Irwin & al. 32414 (2) (C, NY!, UB!,
 US!, U!)
Irwin & al. 33156 (4) (NY!, UI, UB!)
Joly & Semir 2987 (2) (SP!)
Joly & Semir 3186 (2) (SP!)
Joly & Semir 3208 (2) (SP!, UEC!)
Joly & al. 106 (2) (SP!)
Joly & al. 238 (2) (SP!, UEC!)
Joly & al. 945 (2) (SP!)
Joly & al. 984 (2) (SP!)
Joly & al. 1048 (2) (SP!, UEC!)
Joly & al. 1107 (2) (SP!, UEC!)
Joly & al. 1675 (4) (SP!, UEC!)
Joly & al. 1842 (2) (SP!)
Joly & al. 1875 (2) (SP!)
Joly & al. 1893 (2) (SP!)
Joly & al. 2116 (2) (SP!)
Joly & al. 2473 (2) (SP!)
Kamei s.n. (4) (BHCB!, ESA!, U!)
Kameyama & Esteves 26 (2) (SPFI!)
Kinoshita & Moreira 96-153 (3) (UEC!)
Kinoshita & al. 98-435 (4) (UEC!)
Kinoshita & al. 98-456 (4) (UEC!)
Kinoshita-Gouvêa & al. 19157 (4)
 (UEC!)
Kirizawa & Makino-Watanabe 2989
 (2) (SP!)
Kirizawa & Makino-Watanabe 3015
 (2) (SP!)
Kirkbride Jr. & Kirkbride 3475 (4)
 (UB!)
Koch 620 (2) (UEC!)
Kral & al. 72904 (2) (SP!)
Krieger & Brügger 25600 (4) (ESA!)
Krieger & Brügger s.n. (3) (CESJ,
 ESA!)
Krieger 8265 (4) (CESJ, ESA!, SPF!)
Krieger 9670 (2) (CESJ, SPF!)
Krieger 10614 (3) (CESJ!)
Krieger 10659 (4) (CESJ!)
Krieger 11470 (3) (CESJ!, SPF!)
Krieger 11608 (4) (CESJ!, SPF!)
Krieger 20499 (2) (ESA!, SPF!)
Krieger 21427 (4) (CESJ, ESA!)
Krieger s.n. (1) (CESJ! CESJ16643)
Krieger s.n. (1) (CESJ, ESA!, RB!
 CESJ8528)
Krieger s.n. (2) (CESJ! CESJ7362)
Krieger s.n. (3) (BHCB!, CESJ!,
 CTES, ESA, MBM, RB!
 CESJ14578)
Kuhlmann 4474 (3) (SP, SPF!)
Kuhlmann s.n. (2) (SP!, SPF!
 SPF160451)
Kuhlmann s.n. (3) (SP!)
Kummrow 1888 (2) (MBM!)
Kummrow 2824 (4) (U!, US!)
Landrum 4232 (2) (NY(2)!)
Lanna & Strang 1918 (3) (GUA!)
Lanna Sobrinho 603 (3) (GUA!)
Leitão Filho 19278 (4) (UEC!)
Leitão Filho & Martins 5956 (4) (UEC!)
Leitão Filho & al. 1878 (4) (UEC!)
Leitão Filho & al. 7834 (4) (UEC!)
Leitão Filho & al. 12504 (4) (SPFI,
 UEC!)
Leitão Filho & al. 17279 (2) (UEC!)
Leitão Filho & al. 19303 (2) (UEC!)
Lemos Filho s.n. (4) (BHCB!)
Leoncini 69 (4) (R!)
Leoncini 485 (3) (R!)
Lewis & al. CFSC 7812 (2) (SPFI, U!)
Lima 216 (4) (HRB!)
Lima 1068 (2) (CEPEC, RB!)
Lima & al. 121 (4) (SPFI!)
Lindeman & Haas 4224 (2) (NY!, UI,
 US!)
Lindeman & Haas 6011 (4) (U!)
Lisboa s.n. (1) (ESA!)
Loeulle & al. 339 (2) (SPFI!)
Loeulle & al. 429 (4) (SPFI!)
Lombardi & Toledo 507 (2) (BHCB,
 ESA!, U!)
Lombardi 4571 (4) (BHCB!)
Lombardi 829 (4) (U!)
Lombardi 881 (4) (BHCB!, U!)
Lombardi & al. 1605 (2) (BHCB!)
Lombardi & al. 1607 (2) (BHCB!)
Lombardi & al. 3898 (2) (BHCB!, RB!)
Lovo & al. 145 (2) (SPFI!)
Luciano 707 (2) (ALCB!)
Luederwaldt s.n. (3) (SP!)
Lutz 343 (2) (R!)
Lutz 344 (2) (R!)
Lutz 344a (3) (R!)
Lutz 698 (2) (R!)
Lutz 699 (3) (R!)
Lutz 723 (3) (R!)

Lutz 1928 (3) (R!)
Macedo 16 (4) (UB!)
Macedo 117 (4) (SPSF!)
Macedo 3052 (3) (NY!, US!)
Macedo 3056 (2) (US!)
Macedo 3094 (3) (US!)
Macedo 3291 (4) (US!)
Macedo & al. 31 (4) (SPSF!)
Macedo & al. 106 (4) (SPSF!)
Magalhães 1045 (3) (BHCB!)
Magalhães 1046 (3) (BHCB!)
Magalhães 1091 (3) (BHCB!)
Magalhães 1771 (2) (BHCB!)
Magalhães 3203 (4) (US!)
Márcio s.n. (1) (BHCB!)
Marcondes-Ferreira & Semir 285 (2) (SPF!, SPFR!)
Marcondes-Ferreira & al. 228 (2) (SPF!, SPFR!, UEC!)
Marcondes-Ferreira & al. 286 (3) (SPFR!)
Marcondes-Ferreira & al. 379 (4) (SPFR!)
Marcondes-Ferreira & al. 383 (4) (SPFR!)
Marcondes-Ferreira & al. 1114 (4) (SPF!, SPFR!)
Marcondes-Ferreira & al. 1229 (4) (PMSP!, SPF!, SPFR!)
Marcondes-Ferreira & al. 1479 (4) (SPF!)
Marinho s.n. (1) (CESJ, MBM!, RB!)
Marquete & al. 31 (2) (HRB!, RB!)
Marquete & al. 57 (4) (HRB!, RB!)
Marquete & al. 2291 (4) (IBGE!)
Marquete & al. 2736 (4) (IBGE!)
Martens 71 (2) (SPF!)
Martens 72 (4) (SPF!)
Martens 278 (2) (SPF!)
Martens 370 (2) (SPF!)
Martinelli 11283 (2) (RB!)
Martinelli & Chautems 9283 (3) (RB!)
Martinelli & Távora 2689 (3) (RB!)
Martinelli & al. 21238 (2) (BHCB!)
Martinelli & al. 7472 (4) (RB!)
Martins 131 (4) (UEC!)
Martins 155 (4) (UEC!)
Martins 274 (3) (GUA!)
Martins 888 (4) (SP!, SPF!)
Martins & al. 59 (2) (SPF!)
Martins & al. 100 (2) (SPF!)
Martins & al. 102 (2) (SPF!)
Martins s.n. (2) (BHCB! BHCB8488)

Martins s.n. (4) (BHCB! BHCB8491)
***Martius 651* (3) (M [fotos SPF!])**
***Martius 690* (4) (M [fotos SPF!])**
Martius 1053 (2) (G!)
Martius 1054 (4) (G!, L(2)!, NY!)
***Martius 1153* (4) (M [2, fotos SPF!])**
***Martius 1385* (2) (M [foto SPF!])**
***Martius s.n.* (2) (M [foto SPF!])**
Mattos 13650 (4) (SP!)
Mattos s.n. (2) (MBM!, US!)
Mayo & al. CFSC 7011 (2) (SPF!, U!)
Mazine & al. 406 (3) (ESA!)
Meira & al. 23 (2) (VIC!)
Meireles & Nunes 2271 (3) (SPF!, UEC)
Meireles & al. 2907 (3) (SPF!, UEC)
Mello-Barreto 657 (2) (BHCB!)
Mello-Barreto 2788 (2) (BHCB!, R!)
Mello-Barreto 2789 (2) (BHCB!)
Mello-Barreto 2791 (2) (BHCB!)
Mello-Barreto 2792 (2) (BHCB!)
Mello-Barreto 2794 (2) (R!)
Mello-Barreto 2795 (2) (BHCB!)
Mello-Barreto 2797 (2) (BHCB!, F, R!)
Mello-Barreto 2800 (2) (BHCB!, R!)
Mello-Barreto 2802 (2) (BHCB!, F)
Mello-Barreto 2825 (4) (BHCB!)
Mello-Barreto 2835 (4) (BHCB!)
Mello-Barreto 2854 (4) (R!)
Mello-Barreto 2858 (4) (BHCB!)
Mello-Barreto 4501 (4) (BHCB!)
Mello-Barreto s.n. (2) (BHCB! BHCB658)
Mello-Barreto s.n. (4) (BHCB! BHCB655)
Mello-Barreto & Brade 1243 (2) (RB!, U!)
Mello-Silva & Ferreira 2847 (4) (CESJ!, SPF!)
Mello-Silva & Ferreira 2848 (3) (CESJ!, CHRBI!, SPF!)
Mello-Silva & Ferreira 2868 (2) (CESJ!, SPF!)
Mello-Silva & Forzza 2797 (2) (RB!, SPF!)
Mello-Silva & al. 736 (4) (SPF!)
Mello-Silva & al. 2309 (4) (SPF!)
Mello-Silva & al. CRCR 9016 (2) (SP, SPF!)
Mello-Silva & al. CFRCR 9755 (2) (CHRBI!, SPF!)
Melo & França 561 (4) (UB!)
Mendonça & al. 2786 (4) (IBGE!)

Mendonça & al. 3503 (4) (IBGE!, RB)
Mendonça & al. 4793 (4) (IBGE!, RB, SP!)
Menezes & Meguro CFRCR 9795 (2) (SPF!)
Menezes & al. 426 (2) (SPF!, VIC)
Menezes & al. 439 (2) (SPF!, VIC)
Menezes & al. CFRCR 7708 (2) (SPF!)
Menezes & al. CFSC 5809 (2) (SP!)
Méxia 5842 (2) (NY!, US!)
Mimura 302 (4) (SP!)
Mimura 343 (4) (SP!)
Mimura 349 (4) (SP!)
Mimura 383 (4) (SP!, US!)
Mimura 395 (4) (SP!, UBI!, US!)
Mimura 414 (4) (SP!, US!)
Mimura 416 (4) (NY!, SP!, UBI!)
Mimura 432 (4) (SP!)
Monguilhot & al. 102 (3) (SPF!)
Monguilhot & al. 104 (4) (CHRBI!, SPF!)
Monteiro & Vianna 254 (2) (GUA!)
Monteiro 219 (2) (GUA!)
Monteiro 2989 (2) (RBR!, SPF!)
Monteiro s.n. (2) (GUA!)
Moreira 24 (4) (SPF!)
Moreira 53 (4) (U!)
Mori & Benton 13587 (2) (CEPEC!, NY!, RB!, U!)
Mori & al. 16972 (4) (CEN!, CEPEC!, NY!)
Moura & Vieira 423 (4) (SPF!, VIC)
Moura & al. 405 (2) (VIC!)
Moura s.n. (3) (SP!)
Munhoz & al. 108 (4) (UB!)
Munhoz & al. 2729 (4) (SPF!)
Nakajima & al. 1032 (4) (HUFU, SP!, SPF!)
Nakajima & al. 1134 (4) (HUFU, SP!, SPF!)
Nakajima & al. 500 (3) (HUFU, SP!, SPF!)
Nakajima & al. 912 (3) (HUFU, SP!, SPF!)
Netto s.n. (3) (R, US! R14739)
Nogueira 143 (4) (SPF!)
Oldenburger & Mecenas 1540 (4) (U!)
Oliveira s.n. (3) (UB!)
Oliveira s.n. (4) (R!)
Oliveira & Forzza 44 (1) (SP!)
Oliveira & Proença 120 (4) (UB!)
Oliveira & al. 370 (4) (IBGE!)
Oliveira & al. 1047 (4) (IBGE!, RB, U!)

Oliveira & al. 1081 (2) (IBGE, RBI, UI)
Passos & Correia 7 (4) (SPF!)
Paula & al. 3 (4) (VIC!)
Paula & al. 26 (2) (VIC!)
Paula & al. 27 (4) (VIC!)
Paula & al. 122 (4) (VIC!)
Paula & al. 493 (4) (VIC!)
Paula & al. 587 (3) (VIC!)
Paula & al. 602 (2) (VIC!)
Paula & al. 689 (2) (VIC!)
Paula & al. 691 (3) (VIC!)
Paula & al. 715 (4) (VIC!)
Paula & al. 726 (4) (VIC!)
Paula & al. 747 (4) (VIC!)
Paula-Souza & al. 4559 (4) (ESA!)
Paula-Souza & al. 9389 (4) (CTES, SPF!)
Pavan s.n. (4) (SPF!)
Pereira 1486 (4) (RBI, UI!)
Pereira 1540 (2) (RBI!)
Pereira 630 (4) (RBI, UI!)
Pereira 7498 (4) (HB, LP!)
Pereira & Lucca 946 (2) (UI!)
Pereira & Pabst 2398 (2) (RBI, UI!)
Pereira & Pabst 2409 (2) (RBI!)
Pereira & Pabst 2904 (2) (HB, LP!, RBI, UI!)
Pereira & al. 841 (2) (UEC!)
Pereira-Silva & al. 6220 (4) (CEN!)
Pickel 4595 (3) (IPA!, SP!)
Pickel 5196 (3) (SP!)
Pietrobon-Silva & al. 3345 (4) (CTES!, MBM!, SJRP!)
Piliackas & al. CFSC 10875 (2) (CHRB!, SPF!)
Pinheiro Sobrinho s.n. (4) (BHCB!)
Pinna & al. 20 (4) (SPF!)
Pinto s.n. (2) (ALCB!)
Pirani & al. 1534 (4) (K, SPF!)
Pirani & al. 1719 (2) (SP, SPF!)
Pirani & al. 4229 (4) (SPF!)
Pirani & al. 4355 (4) (SPF!)
Pirani & al. 5393 (2) (SPF!)
Pirani & al. 5483 (3) (SPF!)
Pirani & al. 5538 (4) (SPF!)
Pirani & al. CFCR 11208 (4) (CHRB!, SPF!)
Pirani & al. CFCR 13089 (2) (SP, SPF!)
Pirani & al. CFCR 2170 (4) (SPF!)
Pirani & al. CFSC 12167 (2) (SPF!)
Pirani & al. CFSC 8023 (2) (SPF!)
Pirani & al. CFSC 8054 (2) (SPF!, UI!)
Pires & Mattos 9850 (4) (UB!)
Pires & Nobre 424 (4) (CESJ!)
Pires 57016 (4) (NY!)
Pires 57978 (4) (NY!, UI, UB!, US!)
Pires 58070 (4) (NY!, UI!)
Pires & al. 21-499 (4) (ESA!)
Porto 3353 (3) (RBI, UI!)
Proença & al. 1962 (4) (UB!)
Queiroz 707 (2) (HUEFS!)
Queiroz & al. 1892 (2) (HUEFS!)
Queiroz & al. 1913 (2) (HUEFS!)
Queiroz & al. 1934 (2) (HUEFS!)
Queiroz & al. 4369 (2) (HUEFS!)
Queiroz & al. 5009 (2) (HUEFS, SP!)
Raggi & al. 36 (4) (VIC!)
Rapini & al. 645 (4) (SPF!)
Ratter & al. 3121 (4) (NY!,UEC!)
Ratter & al. 7314 (4) (NY!, UB!)
Reeves & al. 239 (4) (NY!, UI!)
Regnell 122 (3) (SP!)
Regnell (I)299 (3) (US!)
Regnell (I)300 (3) (US(2)!)
Reis 10 (4) (SPF!)
Reitz & Klein 6083 (2) (LP!, US!)
Reitz & Klein 6166 (2) (US!)
Reitz & Klein 17907 (2) (US!)
Renner 698 (2) (AAU!)
Ribas & al. 2280 (2) (MBM!)
Riedel s.n. (4) (L!, US!)
Rizzo 8123 (4) (UFG!)
Rizzo & Barbosa 6439 (4) (UFG!)
Rocha & al. 17 (2) (SPF!)
Romaniuc Neto 338 (4) (SP!)
Romaniuc Neto & Sajo 394 (4) (NY!, SP!)
Romaniuc Neto & al. 634 (2) (NY!, SP!)
Rombouts s.n. (3) (IAG, SP!)
Romero & Nakajima 1019 (3) (HUFU, SP!, SPF!)
Romero & al. 921 (4) (HUFU, SP!, SPF!)
Romero & al. 1934 (3) (HUFU, SP!, SPF!)
Romero & al. 2134 (4) (HUFU, SP!, SPF!)
Romero & al. 2366 (3) (HUFU, SP!, SPF!)
Romero & al. 2486 (4) (HUFU, SP!, SPF!)
Romero & al. 2661 (4) (HUFU, SP!, SPF!)
Romero & al. 5528 (2) (UEC!)
Roppa 719 (4) (R!)
Roque & al. 141 (2) (SPF!)
Roque & al. 581 (4) (ALCB!, CEPEC!, HUEFS!)
Rossi & al. CFCR 1045 (4) (CHRB!, SPF!, UI!)
Rossi & al. CFCR 1046 (4) (SPF!)
Rossi & al. CFCR 1108 (2) (SPF!)
Rossi & al. CFCR 1178 (2) (SPF!, UI!)
Rossi & al. CFCR 2995 (2) (SPF!, UI!)
Rossi & al. CFCR 3083 (2) (SPF!, UI!)
Saint-Hilaire s.n. (2) (US!)
Saint-Hilaire s.n. (2) (NY!, P; 123)
Saint-Hilaire s.n. (2) (NY!, P; 125)
Saint-Hilaire s.n. (4) (NY!)
Sakane 59 (3) (SP!)
Sakuragui & Souza 101 (2) (ESA!, HUEFS!)
Sakuragui & Souza 161 (2) (ESA!)
Sakuragui & al. CFCR 14008 (2) (SPF!)
Sakuragui & al. CFCR 15169 (4) (CHRB!, ESA!, SPF!)
Sakuragui & al. CFCR 15269 (2) (CHRB!, ESA!, SPF!)
Salimena s.n. (1) (CESJ!)
Salimena-Pires & al. CFSC 11412 (2) (SPF!)
Salino & Mota 6995 (4) (BHCB!)
Salino 4773 (4) (BHCB!, UI!)
Salino & al. 26414 (3) (UEC!)
Samp. 6222 (4) (R!)
Sampaio 6837 (2) (R!)
Sanches & al. 26566 (3) (UEC!)
Sano & al. 929 (4) (SPF!)
Sano & al. 940 (3) (SPF!)
Santiago 5 (4) (NY!)
Santos & al. 1278 (4) (CEN, SPF!)
Sasaki & Junqueira 473 (4) (SPF!, SPFR)
Sasaki & Junqueira 521 (4) (SPF!)
Sasaki & al. 222 (4) (SPF!)
Sasaki & al. 347 (4) (SPF!)
Sazima & Semir 3885 (2) (SP!, UEC!)
Sazima 4077 (2) (SP!)
Sazima 18948 (2) (UEC!)
Sazima & al. 10 (4) (SP!)
Scatena & al. CFCR 10649 (2) (SPF!)
Segadas-Vianna 2529 (3) (R!)
Segadas-Vianna 2543 (3) (R!)
Segadas-Vianna 3285 (3) (R!)
Segadas-Vianna 3286 (3) (R!)
Sellow 918 (2) (B (photo US!))

Sellow 1628 (2) (B, foto F!)
Sellow s.n. (2) (HAL [scan!], K [scan!], LI, WI!)
Sellow s.n. (3) (LI!)
Sellow s.n. (4) (B [foto F!], HAL [scan!], K [2, scans!], P[scan!])
Sellow s.n. (4) (B, K [foto U!], LI!)
Sem coletor 1300 (3) (SP!)
Sem coletor 1399 (2) (RB!)
Sem coletor 1523 (3) (RB!)
Sem coletor 2853 (3) (RB!)
Sem coletor 98-565 (4) (UEC!)
Sem coletor s.n. (2) (R! R94380)
Sem coletor s.n. (2) (R! R94383)
Sem coletor s.n. (2) (R! R94390)
Sem coletor s.n. (2) (RB! RB10629)
Sem coletor s.n. (2) (RUSU!
RUSU481)
Sem coletor s.n. (2) (RUSU!
RUSU686)
Sem coletor s.n. (2) (SPF! SPF83962)
Sem coletor s.n. (3) (RB! RB10369)
Sem coletor s.n. (3) (SP, SPF!
SPF160479)
Sem coletor s.n. (4) (R! R94391)
Semir & Sazima 582 (2) (UEC!)
Semir & Sazima 683 (2) (SP!)
Semir & Sazima 713 (2) (SP!, UEC!)
Semir & Sazima 729 (2) (SP!, UEC!)
Semir & Sazima 752 (2) (SP!)
Semir & Sazima 2009 (2) (SP!)
Semir & Sazima 2094 (2) (SP!, UEC!)
Semir & Sazima 2605 (2) (SP!)
Semir & al. 01//59 (2) (UEC!)
Semir & al. 634 (2) (SP!, UEC!)
Semir & al. 2359 (2) (SP!)
Semir & al. 2765 (2) (SP!)
Semir & al. 19499 (4) (UEC!)
Semir & al. 19585 (4) (UEC!)
Semir & al. CFSC 9598 (2) (SP, SPF!)
Semir & al. s.n. (3) (SPF!)
Serafim 25 (3) (SPF!)
Serafim 32 (3) (SPF!)
Serafim 33 (3) (SPF!)
Shepherd 10212 (2) (UEC!)
Shepherd & al. 3938 (2) (UEC!)
Shepherd & al. 12184 (3) (UEC!)
Shepherd & al. 19008 (2) (UEC!)
Shepherd & al. 19018 (4) (HUEFS!,
UEC!, UPCB, VIC!)
Siegel s.n. (3) (RB!, U!)
Silva & Abe 2897 (2) (MBM!)
Silva & Santos 1219 (2) (HUEFS!,
MBM)
Silva & Santos 3288 (4) (IBGE!)
Silva 52 (4) (RB!, RBR!)
Silva 1011 (4) (SPF!, UB)
Silva 2703 (4) (U!)
Silva 5051 (4) (IBGE, SP!)
Silva & al. 2014 (2) (IBGE!, U!)
Silveira 24 (4) (BHCB!, U!)
Silveira 531 (3) (R!)
Silveira 2180 (3) (R!)
Simão & al. CFSC 9655 (2) (SP,
SPF!)
Simão-Bianchini 163 (4) (U!, SP,
SPF!)
Simão-Bianchini & Bianchini 1107 (3)
(SP, SPF!)
Simonis & Cordeiro CFCR 4009 (2)
(CHRB!, SPF!, U!)
Smith 4733 (4) (US!)
Smith 7033 (2) (NY!, RI, US!)
Smith & al. 6760 (2) (US!)
Smith & al. 14654 (2) (RI, US!)
Smith & al. 14798 (3) (US!)
Soares s.n. (4) (BHCB!)
Souza 2 (4) (SPSF!)
Souza (A. Macedo 5765) (2) (US!)
Souza s.n. (3) (BHCB, SPF!
SPF70605)
Souza s.n. (4) (BHCB!)
Souza & Sakuragui 3314 (2) (ESA!)
Souza & Sakuragui 3386 (4) (ESA!)
Souza & Souza 22177 (2) (ESA!)
Souza & Souza 22185 (2) (ESA!)
Souza & al. 1482 (4) (SPF!)
Souza & al. 2210 (4) (ESA!)
Souza & al. 3968 (2) (ESA, SP!,
SPSF!)
Souza & al. 7804 (2) (ESA!, HUFU!,
SPF!)
Souza & al. 7866 (2) (ESA!, MBM!,
SPF!)
Souza & al. 7914 (4) (ESA!, HUFU!,
SPF!)
Souza & al. 7916 (4) (ESA!)
Souza & al. 7917 (4) (ESA!)
Souza & al. 10038 (2) (ESA!, SPF!)
Souza & al. 10063 (3) (ESA!, SPF!)
Souza & al. 11482 (4) (BHCB, CESJ,
CTES, ESA!, FUEL, HUEFS, M,
MBM, RB, SPF!)
Souza & al. 11612 (2) (ESA!)
Souza & al. 11725 (2) (ESA!)
Souza & al. 12042 (4) (ESA!, SPF!)
Souza & al. 12065 (4) (ESA!)
Souza & al. 20893 (2) (ESA!)
Souza & al. 20947 (2) (CESJ!, ESA!,
HUEFS!, SPF!)
Souza & al. 21164 (4) (ESA!)
Souza & al. 22701 (4) (ESA!)
Souza & al. 22711 (2) (ESA!)
Souza & al. 22925 (2) (ESA!)
Souza & al. 23855 (4) (ESA!, SPF!)
Souza & al. 24752 (4) (ESA!, SPF!)
Souza & al. 24819 (4) (ESA!, SPF!)
Souza & al. 25111 (2) (BHCB, ESA!)
Souza & al. 25170 (4) (ESA!)
Souza & al. 25215 (2) (ESA!)
Souza & al. 25360 (2) (ESA!)
Souza & al. 26084 (2) (ESA!)
Souza & al. 26852 (4) (ESA!)
Souza & al. 26919 (4) (ESA!, SPF!)
Souza & al. 28055 (3) (ESA!)
Souza & al. 28068 (2) (ESA!, SPF!)
Souza & al. 28165 (2) (ESA!, SPF!)
Souza & al. 28380 (2) (ESA!)
Souza & al. 28413 (2) (ESA!)
Souza & al. 28655 (2) (ESA!, SPF!)
Souza & al. 28721-A (2) (ESA!, SPF!)
Souza & al. s.n. (1) (BHCB!, SPF!
BHCB9076)
Souza & al. s.n. (3) (BHCB!)
Stehmann & Brandão 1106 (4)
(BHCB!)
Stehmann & al. 2894 (2) (BHCB, RB!)
Stellfeld 501 (2) (US!)
Stuart s.n. (4) (UB!)
Sucre & Krieger 6785 (1) (BR, CEN!,
CEPEC, F, G, K, LIL, MBM!, MG,
MO, RB!, U!, UEC!)
Sucre & Krieger 6859 (3) (RB!)
Sucre 760 (4) (NY!)
Tamashiro & al. 17442 (4) (UEC!)
Tameirão Neto 3019 (4) (BHCB!)
Tameirão Neto & Werneck 1070 (4)
(BHCB!)
*Taxonomy Class of Universidade de
Brasília 72* (4) (US!)
*Taxonomy Class of Universidade de
Brasília 73* (4) (US!)
Teixeira s.n. (2) (BHCB, U!
BHCB22047)
Teixeira s.n. (2) (BHCB, U!
BHCB23938)
Teixeira s.n. (2) (BHCB!, U!
BHCB23966)

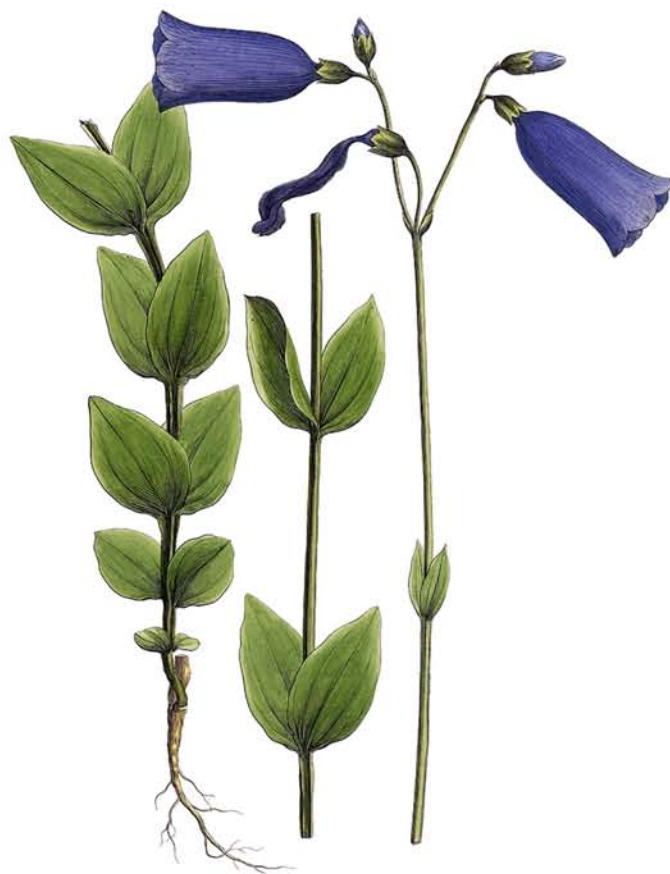
Teixeira s.n. (4) (BHCB!, U!
BHCB26134)
Temponi & al. 418 (2) (SPF!)
Toledo 527 (3) (RB!)
Toledo & al. 111 (4) (NY!, SP!, SPF!)
Tombolato s.n. (1) (IAC! *IAC31891*)
Tombolato s.n. (3) (IAC! *IAC31892*)
Trindade 65 (2) (BHCB!)
Trinta & From 673 (4) (R!, RB!)
Trovó & Ribeiro 133 (2) (SPF!)
Trovó & Watanabe 361 (2) (SPF!)
Trovó & al. 140 (2) (SPF!)
Trovó & al. 150 (2) (SPF!)
Trovó & al. 182 (1) (SPF!)
Trovó & al. 183 (3) (SPF!)
Trovó & al. 415 (4) (SPF!)
Udulutsch & al. 1286 (2) (ESA!)
Uliana & al. 630 (4) (ESA!, SPF!)
Uliana & al. 634 (4) (ESA!)
Uliana & al. 692 (4) (ESA!, SPF!)
Usteri s.n. (3) (SP!)
Valente & Araújo 171 (1) (CESJ, SP!)
Valente & Azevedo 2248 (3) (SPF!,
 VIC)
Valente & Azevedo 2249 (3) (SPF!,
 VIC)
Valente & Meira Neto 1145 (4) (VIC!)
Valente & al. 502 (4) (VIC!)
Valente & al. 531 (2) (UPCB, VIC!)
Valente & al. 532 (2) (SPF!, VIC)
Valente & al. 1222 (4) (SPF!, VIC)
Valente & al. 1482 (3) (SPF!, VIC)
Valente & al. 1717 (2) (SPF!, VIC)
Valente & al. 1718 (4) (SPF!, VIC)
Valente & al. 1936 (4) (SPF!, VIC)

Valente & al. 1941 (4) (VIC!)
Valente & al. 1969 (4) (SPF!, VIC)
Valente & al. 2039 (2) (SPF!, VIC)
Valente & al. 2065 (2) (SPF!, VIC)
Valente & al. 2237 (4) (VIC!)
Valente & al. 2354 (3) (VIC!)
Valle & al. s.n. (1) (VIC!)
Vasconcelos & Lombardi s.n. (4)
 (BHCB!)
Vasconcelos s.n. (2) (BHCB!,
BHCB31891)
Vasconcelos s.n. (2) (BHCB!
BHCB37882)
Vasconcelos s.n. (2) (BHCB, U!
BHCB41423)
Vasconcelos s.n. (2) (BHCB, U!
BHCB41457)
Vasconcelos s.n. (3) (BHCB!
BHCB47854)
Vasconcelos s.n. (3) (BHCB!
BHCB52716)
Vasconcelos s.n. (4) (BHCB!
BHCB37474)
Vasconcelos s.n. (4) (BHCB!
BHCB41449)
Vauthier 167 (2) (G!, L!)
Viana 55 (3) (BHCB!)
Viana 161 (4) (BHCB!)
Viana 226 (2) (BHCB!, U!)
Viana 494 (4) (BHCB!)
Viana 502 (2) (BHCB!)
Viana & Grandi 106 (2) (BHCB!)
Vidal 6388 (4) (R!)
Vidal I-199 (4) (R!)
Vidal II-5979 (2) (R!)

Vidal II-6008 (2) (R!)
Vidal II-6060 (2) (R!)
Vidal s.n. (3) (R! *R108265*)
Vidal s.n. (4) (R!)
Vidal s.n. (4) (R!)
Vidal s.n. (4) (R!)
Viegas & Mello Barreto 11170 (2)
 (BHCB!)
Vieira 723 (4) (CEN, NY!)
Vogel 752 (3) (U!)
Waligora s.n. (4) (SPF!)
Walter & al. 1600 (4) (CEN!, RB!)
Walter & al. 2118 (2) (SP!, UB!)
Walter & al. 4350 (4) (CEN!, U!)
Warming s.n. (2) (NY!)
Watanabe & Trovó 104 (2) (SPF!)
Watanabe & al. 111 (4) (SPF!)
Watanabe & al. 114 (3) (SPF!)
Watanabe & al. 116 (4) (SPF!)
Weddel s.n. (4) (NY!)
Williams & Assis 6383 (2) (US!)
Williams & Assis 6552 (2) (US!)
Williams & Assis 6919 (2) (US!)
Williams & Assis 7091 (4) (US!)
Williams & Assis 7414 (4) (US!)
Williams & Assis 8107 (4) (US!)
Xavier 18 (3) (SPSF!)
Xavier s.n. (3) (SPSF!)
Yamamoto & al. 1115 (4) (UEC!)
Zappi & Scatena CFCR 10923 (2)
 (SPF!)
Zappi & al. CFCR 10485 (4) (SP,
 SPF!, U!)

¹ Esse material possui também *C. amplissimus* (espécie excluída de *Calolisianthus*, ver tratamento taxonômico).

— CAPÍTULO 6 —



LISIANTHUS AMPLISSIMUS

EXTRAÍDO DE NOVA GENERA ET SPECIES PLANTARUM

**NOVAS COMBINAÇÕES NO GÊNERO *CHELONANTHUS* GILG
(HELIEAE, GENTIANACEAE)**

CAPÍTULO 6

Novas combinações no gênero *Chelonanthus* Gilg (Helieae, Gentianaceae)¹

Abstract

Two South American species formerly placed in *Calolisianthus* Gilg are now transferred to *Chelonanthus* Gilg (Helieae, Gentianaceae). Morphological descriptions, illustrations and geographic distribution maps are presented.

Key words *Calolisianthus*, *Chelonanthus*, Morphology, Nomenclature, New combination

Resumo

Duas espécies sul-americanas que pertenciam ao gênero *Calolisianthus* Gilg são transferidas para *Chelonanthus* Gilg (Helieae, Gentianaceae). São apresentadas descrições morfológicas, ilustrações e mapas de distribuição geográfica.

Palavras-chave *Calolisianthus*, *Chelonanthus*, Morfologia, Nomenclatura, Novas combinações

Introdução

A partir dos resultados dos estudos filogenéticos realizados com base em dados morfológicos e moleculares (Calió & al., em prep., Cap. 3) e do estudo de revisão do gênero *Calolisianthus* Gilg (Calió & Pirani, em prep., Cap. 5), constatou-se a necessidade de excluir duas espécies de *Calolisianthus* e transferi-las para *Chelonanthus* Gilg. Neste capítulo, essas novas combinações são oficializadas, bem como são apresentadas as descrições morfológicas e mapas de distribuição geográfica de ambas as espécies.

Materiais e Métodos

Foram analisadas populações naturais durante expedições de coleta, bem como materiais provenientes dos seguintes herbários (exsicatas ou fotos): BHCB, BR, CHR B*, CEN, CEPEC, CESJ*, CTES, E, ESA*, G, HB*, HRB, HUEFS, HUFU, IAC, IBGE, K, L, LIL, LP, M, MBM*, NY*, P, PMSP*, R*, RB*, S, SP*, SPF*, SPFR, SPSF*, U, UB, UEC*, U PCB*,

¹ As informações aqui apresentadas serão publicadas em conjunto com dados obtidos por K.B. Lepis em sua tese de doutorado sobre *Chelonanthus*. Maiores detalhes na Introdução Geral desta Tese.

US*, VIC (* indica herbários visitados). Materiais-tipo dos herbários BR, E, G, K, M, P foram analisados apenas por meio de fotos. Uma listagem de todos os materiais examinados encontra-se no Apêndice A.

O estudo detalhado da morfologia foi feito sob microscópio estereoscópico SZ Olympus. Foram mensuradas apenas estruturas completamente desenvolvidas, com o auxílio de retículo milimétrico do microscópio para estruturas diminutas, e de paquímetro para estruturas maiores que 1 cm. Flores foram re-hidratadas com gotas de glicerina por cerca de 40 segundos em forno de microondas, anteriormente às medições. As descrições de formas de estruturas, de padrões de venação e de tipologia das inflorescências basearam-se, respectivamente, em Radford & al. (1974), Hickey (1979) e Weberling (1989). Dados sobre o *status* de conservação são fornecidos com base nos critérios da IUCN (2001).

Nesse estudo, são denominadas "bractéolas" as estruturas foliares mais próximas do cálice, "brácteas" as estruturas foliares subtendendo flores agrupadas (ou aquelas localizadas abaixo das bractéolas em flores solitárias), e "pedicelo" a estrutura caulinar compreendida entre a base do cálice e a bractéola.

Os mapas de distribuição geográfica foram elaborados com o programa ArcGIS 9.2 (ESRI, 2006), a partir de coordenadas informadas em etiquetas de material de herbário ou georreferenciadas posteriormente, tomando como base o município de ocorrência do espécime.

Tratamento taxonômico

Tradicionalmente, as duas espécies tratadas neste trabalho eram descritas como pertencentes a *Calolisianthus*, tanto por compartilharem atributos morfológicos com as demais espécies do gênero (e.g. hábito herbáceo, corola campanulada de cor lilás), como por ocorrerem, de modo geral, na mesma região no leste do Brasil. Entretanto, o estudo filogenético de Calió & al. (em prep., Cap. 3) demonstrou, com boa sustentação, o posicionamento de tais espécies juntamente com *Chelonanthus purpurascens* em um clado filogeneticamente distante das demais espécies de *Calolisianthus*. Dentro desse panorama, evidenciou-se que os atributos morfológicos compartilhados entre as espécies de *Calolisianthus* em sua circunscrição tradicional tratavam-se, de fato, de homoplasias. Além disso, o estudo detalhado sobre o tipo de habitat mostrou que essas duas espécies segregadas de *Calolisianthus* ocorrem em ambientes mais úmidos e sombreados, enquanto que as demais são encontradas preferencialmente em áreas mais secas e expostas (Calió & Pirani, em prep., Cap. 5).

1. *Chelonanthus abditus* Calió & Pirani **nom. nov.** = *Lisianthus acutangulus* Mart., Flora 21(2), Beibl. 4-5: 49, 1838, nom. illeg. (non *L. acutangulus* Ruiz & Pav., Fl. peruv. prodr. 1794) = *Calolisianthus acutangulus* (Mart.) Gilg in Engler & Prantl Nat. Pflanzenfam. 4(2): 99. 1895 – Citação do tipo: [Brasil, Mato Grosso], "Prope Cuiaba", s.d., *Martius 216* – Lectótipo (designado por Calió & Pirani, Cap. 5): BR [foto SPF!]; BR [foto SPF!], E [imagem da digitalizada da exsicata!], G [foto U!], K [imagem digitalizada da exsicata!], L(×2)!, P [imagem digitalizada da exsicata!].

Ervas, 15–70 cm alt. *Caule* 1.2–1.8 mm diâm. na base da planta, 1–4 mm diâm. abaixo das flores, internós 1.3–2.1 mm compr. na base, 25–74 mm compr. abaixo das flores; alas 0.5–3 mm larg. *Folhas* sésseis, nectários extra-florais na base das folhas ausentes; lâmina estreitamente elíptica, 9–58 × 2–16 mm, base decorrente, ápice acuminado; nervuras secundárias inconspícuas ou conspícuas (1 par), nervuras terciárias inconspícuas ou conspícuas, reticuladas. *Flores* 1–7; brácteas escamiformes, lineares a estreitamente elípticas, 8–21 × 1.8–2 mm, base truncada ou decorrente, margem inteira, ápice acuminado; bractéolas escamiformes, elípticas ou lanceoladas a ovadas, 3–4.5 × 1.6–3.5 mm, base truncada ou decorrente, margem inteira ou erosa, ápice agudo; pedicelo 4–11 × 0.8–1.7 mm. *Cálice* 9–11 × 6.5–8 mm; tubo 5–5.5 mm compr.; lobos 5, circulares ou largamente ovados a largamente depresso-ovados, 3–5.5 × 3–5.7 mm, margem erosa, ápice arredondado. *Corola* lilás, ápice dos lobos alvescente a amarelado, campanulada, 36–82 mm compr., 4.7–8.1 vezes maior que o cálice; tubo 34–60 mm compr., 2–2.5 mm larg. na base, 3–8 mm larg. abaixo da inserção dos estames, 23–32 mm larg. no ápice; lobos 5, largamente depresso-ovados a depresso-ovados, 10.6–21 × 15.8–24 mm, margem erosa, ápice obtuso a retuso. *Estames* 5; filetes alvos a esverdeados, 12.4–24.5 mm compr.; anteras alvas a amarelas, estreitamente elípticas, c. 4.5 × 1.3 mm, apêndice estéril c. 0.2 mm compr. *Ovário* verde, ovóide, 6–9.5 × 2.3–3 mm; estilete alvo ou creme a esverdeado, 26–39 × 0.5–0.9 mm; lobos do estigma alvos a esverdeados, ovados a largamente ovados, 5–11 × 5–7.5 mm. *Fruto* estreito-ovóide a ovóide, c. 11.5 × 6 mm (Fig. 1, Fig. 3A-C).

Etimologia. — O termo latino "*abditus*" significa oculto, escondido, secreto. A escolha desse epíteto baseia-se na "identidade secreta" dessa espécie, a qual, além de ter sido designada durante muito tempo por um nome ilegítimo, nunca fora reconhecida como espécie de *Chelonanthus*, fato evidenciado apenas recentemente com os resultados das análises filogenéticas (Calió & al., em prep., Cap. 3). Sendo assim, a escolha do nome coaduna-se com sua qualidade de "espécie oculta de *Chelonanthus*".

Taxonomia. — Ao escolher o epíteto "*acutangulus*" para designar essa espécie, Martius (1838) criou um homônimo posterior em relação ao nome *Lisianthus acutangulus* Ruiz & Pavon, fato que torna *L. acutangulus* Mart um nome ilegítimo. Por essa razão e por não haver outro nome disponível, houve necessidade de atribuir um novo nome a essa espécie.

Distribuição, habitat e conservação. — A espécie ocorre principalmente em Goiás e Distrito Federal, mas a distribuição abrange Tocantins, Maranhão, Piauí e Pará, ao norte, Mato Grosso e Bolívia, a oeste, e Minas Gerais e Bahia, a leste (Fig. 4A). A altitude em que *C. abditus* é encontrada varia entre 100 e 1300 m, com maior freqüência entre 400 e 800 m. Essa espécie é encontrada em cerrados, campos úmidos e alagáveis, brejos e bordas de matas. Foi observada em locais expostos e ensolarados, mas ocorre freqüentemente em locais sombreados tanto pela presença de vegetação mais alta e densa, quanto pela presença de gramíneas. O solo das regiões de ocorrência de *C. abditus* é geralmente argiloso e raramente pedregoso. Segundo os critérios da IUCN (2001), essa espécie não é categorizada como ameaçada.

Morfologia e fenologia. — *C. abditus* apresenta morfologia muito semelhante a *C. amplissimus*, mas difere desta pela forma das folhas, que é sempre estreita (3.5 a 5 vezes mais longa do que larga), e pelas folhas basais e apicais com ápice agudo e com apenas um par de nervuras secundárias conspícuas. Encontrada com flores e frutos principalmente entre dezembro e julho.

Material selecionado. — Aproximadamente 100 coleções analisadas (relação completa no Apêndice A). BOLÍVIA, SANTA CRUZ: Santiago de Chiquitos, Cerro de San Migenato, II.1950, *Cárdenas 4457* (US!). BRASIL, BAHIA: Abaíra, Catolés, encosta da Serra do Atalho em frente ao Mendonça, 13°16'S 41°49'W, 3.iv.1992, *Ganev 12* (HUEFS!, K, NY!, SPI, SPF!). DISTRITO FEDERAL: Brasília, bacia do Rio São Bartolomeu, 21.ii.1980, *Heringer & al. 3440* (IBGE!, KI, NY!, UEC!). GOIÁS: Água Fria de Goiás, Estação Repetidora da Telebrasília de Rocandor, 8.ii.1994, *Hatschbach & al. 60003* (CTES!, MBM); Alto Paraíso de Goiás, Parque Nacional da Chapada dos Veadeiros, estrada para Vereda do Mulungu, 20.iii.2009, *Trovó & al. 470* (SPF!); Cavalcante, estrada Vila Veneno - Serra Branca, km 3,6, margem direita do rio Macacão, 13°34'25"S 48°04'20"W, 20.ii.2002, *Pereira-Silva & al. 5901* (CEN, SPF!); Colinas do Sul, sobre el camino a Cavalcante, 5.ii.1990, *Arbo & al. 3712* (K!); Corumbá de Goiás, ca. 4 km da cidade, estrada para Aparecida, 15°54'38"S 48°45'44"W, 13.iii.2002, *Fonseca & al. 3171* (IBGE!, RB!, US); Formosa, Buraco das Araras que dá acesso ao Hotel Pousada das Araras, 15°23'0,3"S 47°00'57,5"W, 19.iii.2003, *Mendonça & al. 5447* (IBGE!, RB); Ipameri, Fazenda Santo Antônio Fundão, córrego afluente na margem esquerda do rio Jacuba, 17°43'S 48°10'W, 24.iii.1995, *Cavalcanti & al. 1396* (CEN!, CESJ!, SP!); Leopoldo de Bulhões, 16°35'27"S 43°45'21"W, 20.iii.1989, *Walter & al. 148* (IBGE!, U!); Luziânia, 15 km ao sul da cidade, rio Vermelho, 1.iii.1984, *Heringer 17212* (IBGE!, RB); Minaçu, próximo à área de empréstimo de argilo ME 33, 13°28'S 48°23'W, 10.iii.1992, *Cavalcanti & al. 1124*

(U!); Morrinhos, Chapadão, 22.iii.1976, *Hatschbach & Kummrow 38225* (MBM!); Niquelândia, estrada de chão em direção à Reserva do IBAMA, 14°29'46"S 48°27'00"W, 1.iii.1996, *Fonseca & Barros 845* (U!); Pirenópolis, Morro do Frota, 26.i.1991, *Barros 2219* (SP!); Santo Antônio do Descoberto, margem direita do rio descoberto, próximo a Barra com o Córrego Engenho das Lages, 16°05'39"S 48°16'27"W, 17.ii.2003, *Pereira-Silva & al. 7097* (CEN, SPF!); São João d'Aliança, Serra Geral do Paraná, 7 km by road of São João da Aliança, 22.iii.1973, *Anderson & al. 7642* (AAU!, NY!, S!, UB!); Vianópolis, 16°45'S 48°32'W, 21.iii.1989, *Alvarenga & al. 198* (IBGE!). MARANHÃO: Balsas, Condomínio Kissy, Lote 23, 10.iii.1996, *Silva & al. 3491* (CEN!); Chapadinha, Vila Pandoca, 4°0'3,5"S 43°23'51,8"W, 13.vi.2002, *Castro & al. 92* (SPF!). MINAS GERAIS: Cabeceira Grande, Fazenda São Bento, cerca de 400 m a montante da ponte nova sobre o rio Preto (divisa DF/MG), Área de influência da AHE Queimado, 18°02'25"S 47°18'26"W, 17.ii.2003, *Santos & Pereira 1818* (CEN, SPF!); Campina Verde, 12.iv.1989, *Macedo 5492* (NY!, US!); Uberlândia, Reserva Ecológica do Panga, 26.ii.1998, *Barbosa & Araújo 231* (HUFU!, SP, SPF!). MATO GROSSO: Barra do Garças, Indianópolis, Fazenda Brasil (divisa com Fazenda Roncador), 15°05'35"S 52°25'82"W, 20.iii.1997, *Árbocz & al. 3477* (ESA!); Canarana, estrada Água Boa-Nova Xavantina, ca. 40 km após a entrada de Canarana, 13°54'29,3"S 52°04'39.0"W, 23.iii.1997, *Souza & al. 14981* (ESA!); Chapada dos Guimarães, 26.iii.1997, *Hashimoto s.n.* (MBM!); Cuiabá, Chapada dos Guimarães, proximidades da Ponte da Salgadeira, 15°17'25"S 55°48'15"W, 16.xii.1978, *Macedo & al. 1002* (HCMT, UEC!); Poconé, rod. BR-070, km 584, 4.v.1995, *Hatschbach & al. 62238* (MBM!); Santo Antônio do Leverger, 6 km W de Palmeiras (Penitenciária), 30.i.1989, *Krapovickas & Cristóbal 43142* (U!); São Félix do Araguaia, Savana Parque, estrada entre a Vila de Pontinópolis e a Serra dos Magalhães, 11°33'39,4"S 51°13'0,7"W, 21.iii.1997, *Souza & al. 14726* (ESA!). PARÁ: Conceição do Araguaia, Redenção, about 4 km west of town center along highway PA-150, 8°02'S 50°04'W, 21.ii.1980, *Plowman & al. 8962* (U!). PIAUÍ: Uruçuí, 7°15'S 44°32'W, 27.iii.1984, *Orlandi 598* (HRB!). TOCANTINS: Arraias, Estrada de terra, 17 km na rodovia entre Campos Belos (GO) e Arraias (TO), Beira da estrada, 14°01'52,4"S 46°54'21,1"W, 20.iii.2003, *Mazine & al. 883* (ESA!); Babaçulândia, Rod. Belém-Brasília, 29.iii.1976, *Hatschbach & Kummrow 38484* (MBM!, U!); Lagoa da Confusão, Parque Nacional do Araguaia, Sede do parque, Ilha do Bananal, próximo à estrada em direção a aldeia Carajá Macaúba, 10°27'48"S 50°28'52"W, 19.iii.1999, *Silva & al. 3987* (U!); Miracema do Tocantins, Região do Lajeado, 6.iv.2000, *Soares & al. 652* (IBGE!, HTINS).

2. *Chelonanthus amplissimus* (Mart.) Calió & Pirani comb. nov. = *Lisianthus amplissimus* Mart., Nov. Gen. sp. pl. 2(2): 96, tab. 175. 1827 = *Helia amplissima* (Mart.) Kuntze, Revis. gen. pl. 2: 428. 1891 = *Calolisianthus amplissimus* (Mart.) Gilg in Engler & Prantl Nat. Pflanzenfam. 4(2): 99. 1895 = *Irlbachia amplissima* (Mart.) Maas, Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. C. 88(4): 410. 1985 – Citação do tipo: "Brasilia, Prov. Minarum", s.d., *Martius s.n.* – Lectótipo (designado por Calió & Pirani, cap. 5): M [foto SPF!]; isótipo: M [foto SPF!].

Ervas, 15–100 cm alt. *Caule* 1–3.1 mm diâm. na base da planta, 1.2–3.3 mm diâm. abaixo das flores, internós 0.9–3.5 mm compr. na base, 35–230 mm compr. abaixo das flores; alas 0.4–1.5 mm larg. *Folhas* sésseis, nectários extra-florais na base das folhas ausentes; lâmina estreitamente elíptica a orbicular, lanceolada a largamente ovada ou obovada a largamente obovada, 5–100 × 3.2–46 mm, base decorrente, ápice agudo (folhas apicais) ou

arredondado (folhas basais); nervuras secundárias conspícuas (2–3 pares), nervuras terciárias conspícuas, reticuladas. *Flores* 1–6; brácteas foliáceas ou escamiformes, estreitamente elípticas ou lanceoladas a ovadas, 15–30 × 1–13.2 mm, base decorrente, margem inteira ou erosa, ápice agudo, obtuso, arredondado; bractéolas escamiformes, lanceoladas a largamente ovadas, 2.3–5 × 1–4 mm, base truncada ou decorrente, margem erosa, ápice agudo; pedicelo 4–15 × 0.9–2.8 mm. *Cálice* 7–11 × 4.5–8 mm; tubo 2.5–8 mm compr.; lobos 5, largamente ovados a largamente depresso-ovados, 2.8–6 × 3.5–6.5 mm, margem erosa, ápice agudo a arredondado. *Corola* lilás, ápice dos lobos alvescente a amarelado, campanulada, 28–84 mm compr., 4.7–8.1 vezes maior que o cálice; tubo 22–70 mm compr., 2.5–4 mm larg. na base, 3.5–9 mm larg. abaixo da inserção dos estames, 12–28 mm larg. no ápice; lobos 5, largamente depresso-ovados a depresso-ovados, 5–16.5 × 9–23 mm, margem inteira a levemente erosa ou levemente sinuada, ápice obtuso, arredondado ou emarginado. *Estames* 5; filetes alvos a lilases, 11–42 mm compr.; anteras alvas a amarelas, estreitamente elípticas, 4–7 × 1.2–2.5 mm, apêndice estéril 0.2–0.3 mm compr. *Ovário* verde, estreito-ovóide a ovóide, 5.5–9 × 2.5–3.5 mm; estilete alvo, 12–44 × 0.6–1.8 mm; lobos do estigma alvos, ovados a depresso-ovados, 3.5–12 × 2.2–7 mm. *Fruto* estreito-ovóide a ovóide, 13–19 × 6–9 mm (Fig. 2, Fig. 3D-E).

Etimologia e nomes populares. — No protólogo dessa espécie, Martius (1827) descreve a corola como "muito grande" (*amplissima*); acredita-se que o epíteto específico baseie-se nesse atributo da planta. Conhecida popularmente como sininho (referência na etiqueta do material "*Baitello & Peres 1502*").

Taxonomia. — Essa espécie havia sido escolhida como lectótipo do gênero *Calolisanthus* (Pringle, 1995). Entretanto, o estudo detalhado da morfologia do gênero (Calió & Pirani, em prep., Cap. 5) e os resultados da filogenia morfológica e molecular da tribo (Calió & al., em prep., Cap. 3) evidenciaram que *C. amplissimus* e as demais espécies de *Calolisanthus* não são proximamente relacionadas. Ainda, existe claro conflito desse táxon com o protólogo do gênero *Calolisanthus*. Sendo assim, a espécie foi excluída de *Calolisanthus* e um novo lectótipo foi designado para tal gênero (vide Calió & Pirani, em prep., Cap. 4). Por fim, devido ao relacionamento próximo dessa espécie com *Chelonanthus*, foi feita a combinação do nome nesse último gênero.

Distribuição, habitat e conservação. — *C. amplissimus* ocorre no mesmo tipo de vegetação e solo em que ocorre *C. abditus*. Distribui-se principalmente nos estados de Minas Gerais e São Paulo, com menor número de ocorrências em Goiás e Distrito Federal e

apenas uma referência para o Paraná e uma para o Rio de Janeiro (Fig. 4B). Apenas em Goiás e Distrito Federal há sobreposição da distribuição de *C. amplissimus* e *C. abditus* (Fig. 4). A altitude em que é encontrada varia entre 600 e 1500 m, com maior frequência entre 800 e 900 m. Essa espécie não se enquadra como ameaçada segundo os critérios da IUCN (2001).

Morfologia e fenologia. — Os atributos morfológicos que mais ressaltam nessa espécie são a grande corola campanulada, o caule alado e as folhas com base decorrente, sendo estas duas últimas características importantes na distinção entre *C. amplissimus* e as espécies do gênero *Calolisianthus*. A constante presença de folhas elípticas a circulares, largamente ovadas ou largamente obovadas (i.e., 0.9 a 2.5 vezes mais longas do que largas), com 2-3 pares de nervuras secundárias, além de ápice arredondado nas folhas basais, são as principais características que diferenciam essa espécie de *C. abditus*. Floresce e frutifica entre dezembro e julho.

Material selecionado. — Aproximadamente 160 coleções analisadas (relação completa no Apêndice A). BRASIL, DISTRITO FEDERAL: Brasília, Reserva Ecológica do IBGE, próximo ao Córrego Taquara, Cristo Redentor, 18.iii.1991, *Brochado 161* (IBGE, RB!, SPF!). GOIÁS: Alto Paraíso de Goiás, Fazenda São Bento, margem direita da rodovia Alto Paraíso-Colinas, 23.ii.1991, *Alvarenga & al. 778* (IBGE!, SPF!, U!); Caldas Novas, ponte São Bento-Estrada Caldas Novas a Ipameri, 19 km Caldas Novas, margem direita do rio Corumbá, 17°43'S 48°30'W, 24.iii.1993, *Dias & al. 499* (CEN, SP!); Ipameri, margem esquerda do rio Corumbá; em frente à estação de medição de vasão S.O.3, 23.iii.1993, *Silva & al. 1244* (CEN, SPF!); Pirenópolis, Morro da caixa d'água, 23.iv.1976, *Heringer 15784* (UB!); Santa Rita do Araguaia, Rio Babilônia, 15.ii.1974, *Hatschbach 34226* (MBM!, NY!); Silvânia, Fazenda Córrego Profundo, margem direita do rio Corumbá, 16°19'13"S 48°20'44"W, 12.iii.2003, *Pereira-Silva & al. 7411* (CEN, SPF!). MINAS GERAIS: Aiuruoca, PCH Aiuruoca, Rio Aiuruoca, 16.ii.2000, *Tameirão Neto 2917* (BHCB!, RB!); Alpinópolis, Furnas, Fazenda Salto, 23.iii.1975, *Martins 38* (UEC!); Barbacena, estrada para Ibertioga, 12.iii.1982, *Hensold CFCR 2943* (SPF!, U!); Barroso, Mata do Baú, 7.iii.2003, *Assis & al. 711* (CESJ!, RB!); Belo Horizonte, Barreiro, 19.iv.1935, *Mello-Barreto & Brade 1322* (RB!); Betim, Capela Nova do Betim, iii.1916, *Lutz 927* (R!); Caldas, 1868, *Henschen 298* (U, US!); Camanducaia, estrada de São Matheus, 22°45'18"S 46°06'16"W, 20.vi.2000, *Kamino & al. 48* (BHCB!); Corinto, Fazenda do Diamante, 2.iv.1931, *Méxia 5529* (NY!, U!, US!); Couto de Magalhães de Minas, Fazenda das Abóboras, 16.vii.1984, *Varanda & al. CFCR 4543* (K!, SP!, SPF!); Datas, arredores da cidade, 23.ii.1983, *Cordeiro & Simonis CFCR 4014* (SPF!, U!); Entre Rios de Minas, 20.i.1970, *Krieger 8335* (CESJ!); Frutal, 18.iv.1978, *Shepherd & al. 7397* (UEC!); Ibiá, ca. 8 km E of the Araxá junction highway 262 to Belo Horizonte, 29.ii.1976, *Davidse & D'Arcy 10864* (SP!); Jaboticatubas, 10 km ao norte de Lagoa Santa, km 56 da estrada Belo-Horizonte Conceição do Mato Dentro, 19°40'S 43°55'W, 23.iv.1952, *Smith & al. 6974* (US!); Lagoa Dourada, Fazenda do Bom Retiro, 8 km de Lagoa Dourada em direção a Entre Rios de Minas, 20°51'40.6"S 44°03'30.5"W, 8.iii.1995, *Souza & al. 7994* (ESA!, UEC!); Lagoa Santa, NW de Lagoa Santa, 19°40'S 43°55'W, 30.iv.1952, *Smith 6721* (NY!, R!, US!); Lavras, ESAL, 2.ii.1939, *Heringer 188* (SP, SPF!); Minas Novas, 24.iii.1993, *Esteves & Kameyama 2497* (SP!); Nova Lima, estrada de Itabirito km 43, rio acima, 29.iii.1933, *Mello-Barreto 2820* (BHCB!); Ouro Branco, Serra do Ouro Branco, 1.iii.2001, *Caiafa & Meireles 125*

(VIC!); Ouro Preto, Rodrigo Silva, 6.iv.1901, *Damazio 963* (RB!); Paraobeba, FLONA de Paraobeba, 8.iv.2004, *Valente & Meira Neto 1510* (SPF!, VIC); Passa Quatro, 11.iv.1929, *Samp. 6157* (R!); Pimenta, estrada Pimenta-Santo Hilário, 13.ii.1998, *Goldenberg & al. 535* (UEC!); Piumhi, Serra do Andaime, Serra do Andaime, 14.ii.1998, *Romero & al. 5186* (UEC!); Poços de Caldas, Campo do Saco, 12.ii.1965, *Emmerich 2376* (R!); Sabará, estrada de Caeté km 27, 23.iii.1934, *Mello-Barreto 2824* (BHCBI!); Sacramento, Represa de Furnas, fazenda próx. a barragem de Estreito, 1.iii.1992, *Kawal 113* (SP, SPF!); São João del Rei, III.1970, *Krieger 8263* (CESJ, SPF!); São Roque de Minas, Parque Nacional Serra da Canastra, estrada para sacramento, 11 km da sede administrativa, próximo ao Curral de Pedras, 18.iv.1994, *Romero & al. 926* (HUFU, SP!, SPF!); São Sebastião do Paraíso, arredores da cidade, 8.iv.1945, *Brade & Barbosa 17691* (RB!); Taquaraçu de Minas, Jangada, 21.iv.1980, *Grandi 275* (BHCBI!); Três Corações, rod. Três Corações-São Tomé das Letras, 4.ii.1973, *Hatschbach & Ahumada 31218* (MBM!, S!, U!). PARANÁ: Sengés, Morungava, 13.ii.1915, *Dusén 16668* (NY!, US!). RIO DE JANEIRO: Rio de Janeiro, Ipanema, 1903, *Sem coletor s.n.* (SP, SPF!). SÃO PAULO: Alumínio, Chácara Sperancini, antiga área da Fazenda Vale Grande, 11.ii.2001, *Amaral & Bittrich 2001/12* (UEC!); Caieiras, 11.iv.1945, *Hoehne s.n.* (CHRB!, SPF!); Campos do Jordão, Fazenda da Guarda, 22°48'0"S 45°37'0"W, 18.iii.1964, *Gomes 1642* (SP!); Franco da Rocha, Parque Estadual do Juqueri, 23°21'29.4"S 46°41'45,5"W, 13.iv.2005, *Calió & al. 91* (CHRB!, SPF!); Itirapina, 28.iv.1923, *Gehrt s.n.* (SP, SPF!); Mogi-Guaçu, Fazenda Campininha, Campos das Sete Lagoas, just north of rio Mogi-Guaçu, about 10 km N-NE of river & village of Padua Sales, about 30 km NW of city of Mogi-Mirim, 22°15'S 47°08'W, 15.iv.1961, *Eiten & Eiten 2601* (SP!, US!); Mogi-Mirim, 23.v.1923, *Hoehne s.n.* (SP, SPF!); Pedregulho, Parque Estadual das Furnas do Bom Jesus, próximo ao encontra dos córregos Pedregulho e Bom Jesus, 20°11'50"S 47°25'10"W, 21.iii.2004, *Calió & Sasaki 66* (CHRB!, SPF!); Pirassununga, 21.ii.1965, *Vogel 640* (U!); Poços de Caldas, Campo do Saco, 21°50'20"S 46°33'53"W, 16.ii.1981, *Pereira 837* (UEC!); Santo Antônio de Posse, Fazenda Dona Amélia, 14.iii.1983, *Sazima 14670* (UEC!); São Paulo, Butantã, 28.iii.1919, *Hoehne s.n.* (SP!).

Referências Bibliográficas

- Calió, M. F., Pirani, J.R., em prep. Nova lectotipificação de *Calolisianthus* Gilg (Helieae, Gentianaceae). A ser submetido a *Taxon*.
- Calió, M.F. & Pirani, J.R., em prep. Revisão de *Calolisianthus* Gilg (Helieae, Gentianaceae), um gênero endêmico dos campos rupestres e cerrados no Brasil. A ser submetido a *Taxon*.
- Calió, M.F., Pirani, J.R. Struwe, L. & Lepis, K.B., em prep. Estudo filogenético de Helieae (Gentianaceae) com ênfase nos limites genéricos de *Calolisianthus* Gilg, *Chelonanthus* Gilg e *Helia* Mart., baseado em dados moleculares e morfológicos. A ser submetido a *Molecular Phylogenetics and Evolution*.
- ESRI, Environmental Systems Research Institute, INC. 2006. ArcGis – ArcView Desktop 9.2.
- Hickey, L.J. 1979. A revised classification on the architecture of dicotyledonous leaves. Pp. 25–39 in: Metcalfe, C.R. & Chalk, L. (eds.) *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. 1. Ed. 2. Clarendon Press, Oxford.
- IUCN 2001. IUCN Red List categories and criteria. Version 3.1. IUCN, Gland, Switzerland &

Cambridge, U.K.

Martius, C.F.P. von. 1827. *Nova genera et species plantarum quas in itinere per Brasiliam*, vol. 2, pars 2. V. Wolf, München.

Martius, C.F.P. von. 1838 [1837]. Gentianaceae. *Flora* 21(2), Beibl. 4-5. Monachii.

Radford, A.E., Dickson, W.C., Massey, J.R. & Bell, C.R. 1974. *Vascular plant systematics*. Harper & Row Publishers, New York, Evanston, San Francisco, London.

Pringle, J.S. 1995. Family 159A. Gentianaceae. Pp. 1–131 in: Harling, G. & Andersson, L. (eds.), *Flora of Ecuador*, vol. 53. Department of Systematic Botany, Gothenburg University, Göteborg.

Weberling, F. 1989. *Morphology of flowers and inflorescences*. Cambridge University Press, New York.

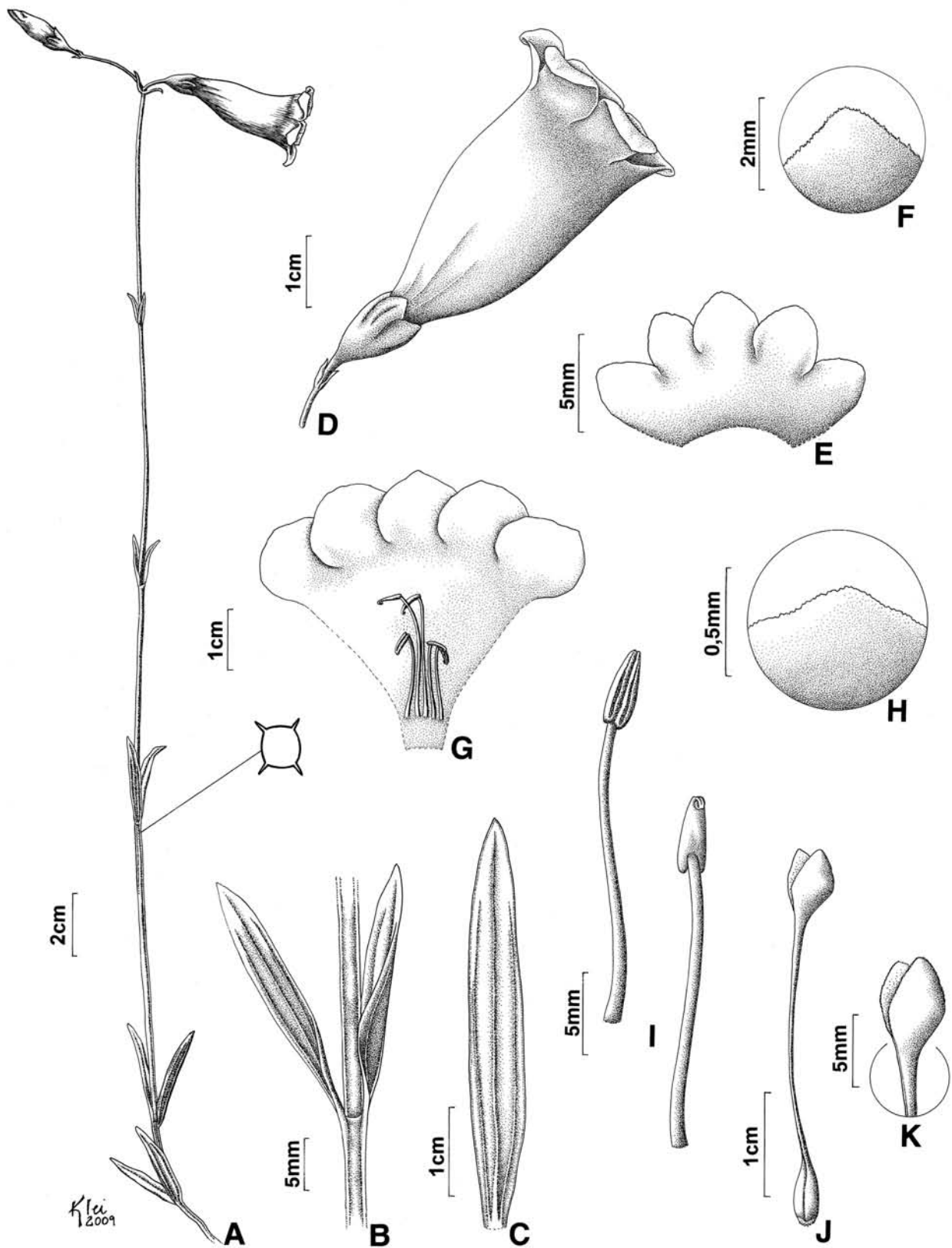


Fig. 1. *Chelonanthus abditus*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C, face abaxial da folha; D, flor, visão lateral; E, cálice rebatido; F, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; G, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; H, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; I, estames (faces abaxial e adaxial); J, gineceu; K, detalhe do estigma. Todos desenhados a partir de *Heringer & al. 3340* (UEC).

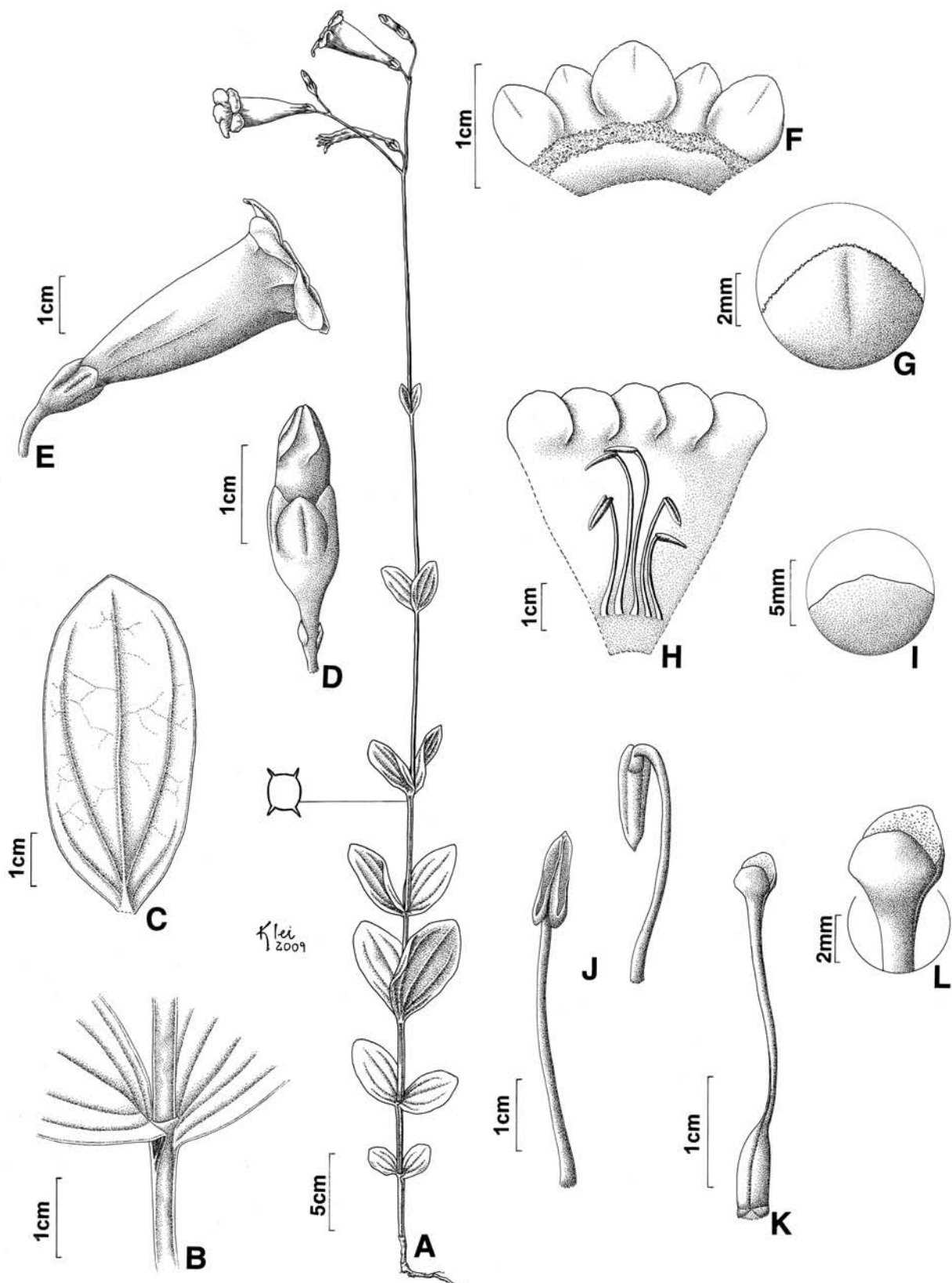


Fig. 2. *Chelonanthus amplissimus*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C, face abaxial da folha; D, botão floral; E, flor, visão lateral; F, cálice rebatido; G, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; H, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; I, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; J, estames (faces abaxial e adaxial); K, gineceu; L, detalhe do estigma. Todos desenhados a partir de *Calíó & Sasaki 66* (SPF).



Fig. 3. *Chelonanthus abditus*. A, ramo com folhas; B, flor, visão lateral; C, flor, visão frontal. *Chelonanthus amplissimus*. D. hábito; E, flor, visão frontal. Fotos: A-C, Marcelo Trovó; D-E, Denise Sasaki.

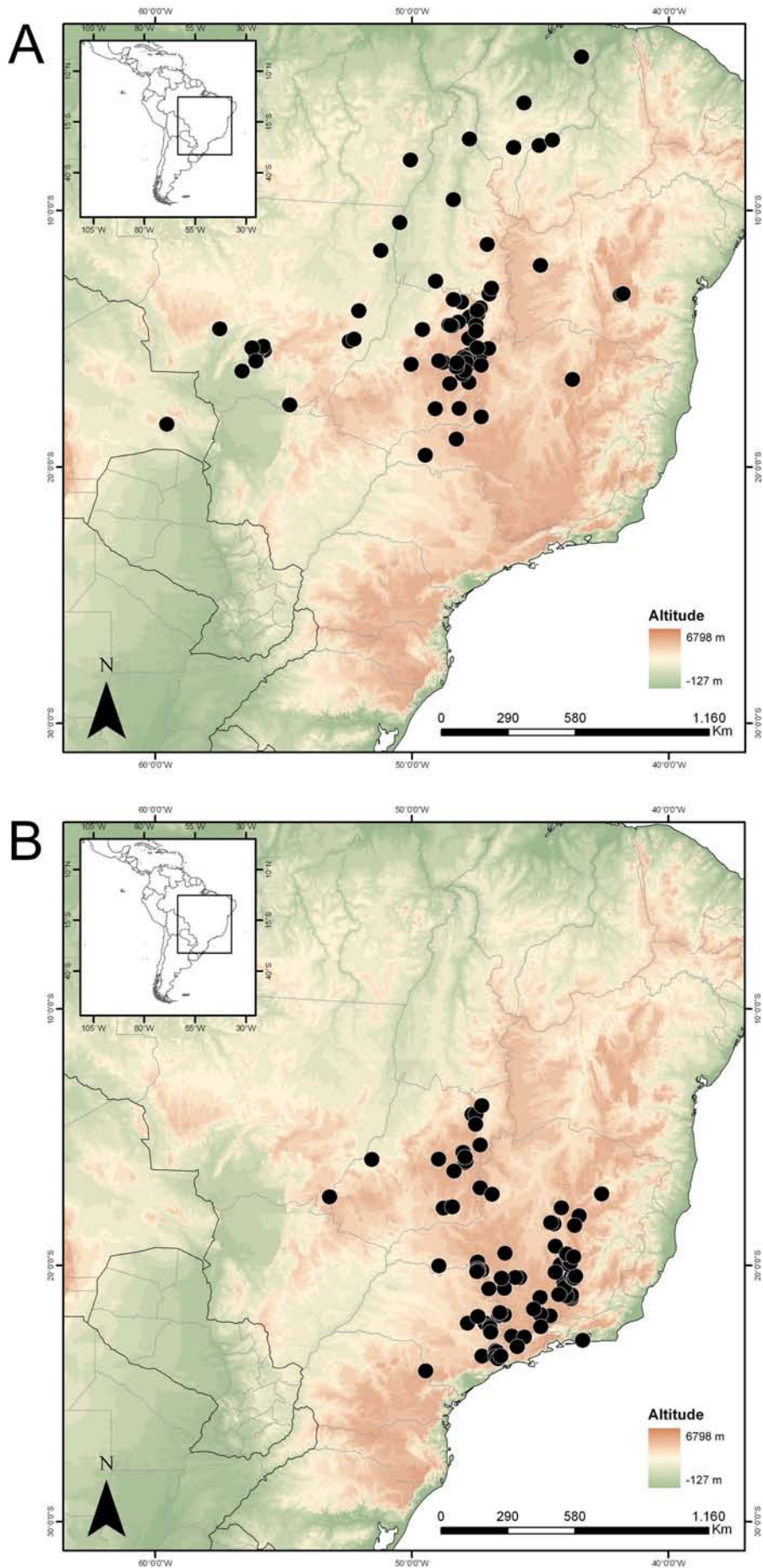


Fig. 4. Distribuição geográfica. A, *Chelonanthus abditus*; B, *Chelonanthus amplissimus*.

Apêndice A. Lista de exsicatas, indicando coletor e número, número da espécie no tratamento taxonômico e herbários. Negrito = espécimes-tipo; scan = imagem digitalizada da exsicata. *Chelonanthus abditus* = 1; *Chelonanthus amplissimus* = 2.

Alvarenga & al. 198 (1) (IBGE!)
Alvarenga & al. 778 (2) (IBGE!, SPF!, U!)
Amaral & Bittrich 2001/12 (2) (UEC!)
Anderson 7492 (2) (AAU!, NY!, UB!)
Anderson & al. 6848 (1) (AAU!, NY, UB!)
Anderson & al. 7229 (1) (NY!, UB!)
Anderson & al. 7642 (1) (AAU!, NY!, S!, UB!)
Anderson & al. 8258 (2) (NY, S!, UB!)
Aragão 11 (2) (R!)
Arbo & al. 3712 (1) (K!)
Árbocz & al. 3296 (1) (ESA!)
Árbocz & al. 3477 (1) (ESA!)
Assis 165 (1) (RB!)
Assis & al. 711 (2) (CESJ!, RB)
Azevedo & Dalvi s.n. (2) (VIC!)
Azevedo & Lopes 499 (1) (IBGE!)
Baitello 956 (2) (SPSF!)
Baitello 969 (2) (SPSF!)
Baitello 1116 (2) (SPSF!)
Baitello 1378 (2) (SPSF!)
Baitello 1723 (2) (SPSF!)
Baitello 1803 (2) (SPSF!)
Baitello & Peres 1418 (2) (SPSF!)
Baitello & Peres 1502 (2) (SPSF!)
Barbosa & Araújo 231 (1) (HUFUI, SP, SPF!)
Barbosa & Araújo 251 (1) (HUFUI, MBM!)
Barros 2219 (1) (SP!)
Brade & Barbosa 17691 (2) (RB!)
Brade & Barbosa 17692 (2) (RB!)
Brade 15698 (2) (RB!)
Brade 16215 (2) (RB!)
Brade 5548 (2) (R!)
Brade 6129 (2) (SP, SPF!)
Brochado 161 (2) (IBGE, RB!, SPF!)
Caiafa & Meireles 125 (2) (VIC!)
Calió & Sasaki 66 (2) (CHRB!, SPF!)
Calió & al. 91 (2) (CHRB!, SPF!)
Cárdenas 4457 (1) (US!)
Castro & al. 92 (1) (SPF!)
Cavalcanti & al. 1124 (1) (U!)
Cavalcanti & al. 1396 (1) (CEN!, CESJ!, SP!,)
Chaves 5 (2) (LIL!)
Claussen s.n. (2) (NY!, P)
Clayton 4890 (1) (K, NY!)
Cordeiro & Simonis CFCR 4014 (2) (SPF!, U!)
Cunha & Leitão Filho 4089 (1) (HCMT, UEC!)
Custodio & Custodio 554 (2) (SPSF!)
Damazio 963 (2) (RB!)
Dambrós 44 (1) (HRB!, RB!)
Davidse & D'Arcy 10864 (2) (SP!)
Delgado & al. s.n. (2) (RB, VIC!)
Dias & al. 499 (2) (CEN, SP!)
Duarte 10363 (2) (RB!)
Dusén 16668 (2) (NY!, US!)
Eiten & Eiten 2601 (2) (SP!, US!)
Eiten & Eiten 4677 (1) (SP, UB!, US!)
Emmerich 2376 (2) (R!)
Emmerich 2454 (2) (R!)
Esteves & Kameyama 2497 (2) (SP!)
Fernandes (A. Macedo) 5751 (2) (US!)
Fonseca & Barros 845 (1) (U!)
Fonseca & al. 3171 (1) (IBGE!, RB!, US)
Fonseca & al. 880 (1) (IBGE!)
Ganev 12 (1) (HUEFS!, K, NY!, SP!, SPF!)
Ganev 3412 (1) (HUEFS!, SPF!)
Gardner 3340 (1) (BM, NY!)
Gardner 3895 (1) (BM, NY!)
Gehrt s.n. (2) (SP, SPF! SPF160447)
Gehrt s.n. (2) (SP, SPF!)
Glaziou 9523 (2) (NY!, P)
Goldenberg & al. 535 (2) (UEC!)
Gomes 1642 (2) (SP!)
Grandi 275 (2) (BHCB!)
Guimarães 108 (1) (RB!)
Haddad 1658-A (2) (UEC!)
Handro 299 (2) (SP!)
Handro 467 (2) (SP, SPF!)
Harley & al. 51744 (1) (CEPEC, HUEFS!, K, NY!, SPF!)
Harley & al. 51898 (1) (CEPEC!, HUEFS!, K, NY!, SP!, SPF!)
Harley & al. 52160 (1) (CEPEC, HUEFS, K, SPF!)
Hashimoto s.n. (1) (MBM!)
Hatschbach & Ahumada 31218 (2) (MBM!, S!, U!)
Hatschbach & Kummrow 38225 (1) (MBM!)
Hatschbach & Kummrow 38484 (1) (MBM!, U!)
Hatschbach 34226 (2) (MBM!, NY!)
Hatschbach & al. 36034 (1) (NY!)
Hatschbach & al. 59890 (1) (MBM!)
Hatschbach & al. 60003 (1) (CTES!, MBM)
Hatschbach & al. 62166 (1) (MBM!)
Hatschbach & al. 62238 (1) (MBM!)
Hatschbach & al. 70465 (1) (MBM, UPCB!)
Hauff 33 (2) (SP!)
Henschen 298 (2) (U, US!)
Hensold CFCR 2943 (2) (SPF!, U!)
Heringer 188 (2) (SP, SPF!)
Heringer 11363 (1) (NY!)
Heringer 13094 (2) (UB!)
Heringer 13144 (2) (UB!)
Heringer 15784 (2) (UB!)
Heringer 17212 (1) (IBGE!, RB)
Heringer 17231 (1) (IBGE!, U!)
Heringer 17718 (1) (IBGE!, US!)
Heringer 17842 (1) (IBGE!, K, MG, MO, NY!, US!)
Heringer & al. 3440 (1) (IBGE, K!, NY!, UEC!)
Heringer & al. 6428 (1) (U!)
Hoehne & Gehrt s.n. (2) (SP, SPF!)
Hoehne 1573 (1) (R!)
Hoehne 3228 (1) (R, US!)
Hoehne s.n. (2) (SP, SPF!)
Hoehne s.n. (2) (SP, SPF!)
Hoehne s.n. (2) (SP!)

Hoehne s.n. (2) (CHRB!, SPF!
 SPF11478)
Irwin & al. 12095 (1) (NY!, SP!, U!)
Irwin & al. 12243 (2) (NY!)
Irwin & al. 13102 (2) (NY!, U!)
Irwin & al. 13871 (1) (NY!, SI, SP!,
 US!, U!)
Irwin & al. 14293 (2) (NY!, SP!, U!)
Irwin & al. 15272 (2) (NY!, RB!)
Irwin & al. 23790 (2) (NY!, UB!)
Irwin & al. 24057 (1) (NY!, RB, SI,
 UB!, US!)
Irwin & al. 24376 (1) (NY!, SI, UB!,)
Irwin & al. 24848 (2) (NY!, RB!, UB!,
 US!)
Irwin & al. 26303 (2) (UB!, NY!)
Irwin & al. 26760 (2) (NY!, SI, U!, UB!)
Irwin & al. 27164 (2) (NY!, UB!)
Irwin & al. 31426 (1) (NY, UB!)
Irwin & al. 31948 (2) (NY, UB!)
Irwin & al. 32012 (1) (NY!, SP!, U!,
 UB!, US!)
Irwin & al. 35016 (1) (LILI, NY!, RI, SI,
 UB!, US!)
Jesus 56 (2) (NY!)
Joly s.n. (2) (SPF!)
Kamino & al. 48 (2) (BHCB!)
Kawal 113 (2) (SP, SPF!)
Kirkbride Jr. 3788 (1) (US!)
Koehler & al. 9915 (2) (UEC!)
Krapovickas & Cristóbal 43142 (1)
 (U!)
Krieger 8263 (2) (CESJ, SPF!)
Krieger 8335 (2) (CESJ!)
Krug 22 (1) (IAC!, SP!)
Kuhlmann 4188 (2) (SP!)
Lima 200 (1) (NY!)
Löfgren 38 (2) (RB!)
Löfgren 265 (2) (RB!)
Luederwaldt s.n. (2) (SP!)
Lund 1839_84 (2) (G!)
Lund 1839_92 (2) (G!)
Lutz 1647 (2) (R!)
Lutz 25 (2) (R!)
Lutz 927 (2) (R!)
Lutz 927a (2) (R!)
Macedo 1760 (1) (NY!)
Macedo 5492 (1) (NY!, US!)
Macedo & al. 1002 (1) (HCMT, UEC!)
Magnago & Silva 126 (1) (HRB!, U!)
Maia & Eunice s.n. (1) (NY!, UB!)
Malme 133879 (1) (S!)
Marcondes-Ferreira & al. 1129 (2)
 (PMSP!, SPFR!)
Martins 38 (2) (UEC!)
Martius 216 (1) (BR [2, fotos SPF!],
E [scan!], G [foto U!], L(2)!, K
[scan!, P [scan!])
Martius s.n. (2) (M [2, fotos SPF!])
Mazine & al. 883 (1) (ESA!)
Mello-Barreto 654 (2) (BHCB!)
Mello-Barreto 2820 (2) (BHCB!)
Mello-Barreto 2824 (2) (BHCB!)
Mello-Barreto 2826 (2) (BHCB!)
Mello-Barreto 2836 (2) (BHCB!)
Mello-Barreto 2850 (2) (R!)
Mello-Barreto & Brade 1322 (2) (RB!)
Mendonça & al. 2471 (1) (IBGE!, RB)
Mendonça & al. 5447 (1) (IBGE!, RB)
Méxia 5529 (2) (NY!, U!, US!)
Mimura 318 (2) (SP!, US!)
Mimura 400 (2) (NY!, SP!)
Monteiro & Leitão Filho 26 (1) (HCMT,
 UEC!)
Monteiro & Leitão Filho 27 (1) (HCMT,
 UEC!)
Netto & Joly 634 (2) (SPF!)
Orlandi 598 (1) (HRB!)
Paula & al. 711 (2) (VIC!)
Paula-Souza & al. 4558 (1) (ESA!)
Pereira & Pabst 2352 (2) (HB, LP!)
Pereira & Pabst 3018 (2) (HB, LP!,
 RB!)
Pereira 837 (2) (UEC!)
Pereira 839 (2) (HUFU!, UEC!)
Pereira-Silva & al. 5901 (1) (CEN,
 SPF!)
Pereira-Silva & al. 7097 (1) (CEN,
 SPF!)
Pereira-Silva & al. 7298 (1) (CEN,
 SPF!)
Pereira-Silva & al. 7411 (2) (CEN,
 SPF!)
Philcox & Onishi 4779 (1) (K, NY!)
Plowman & al. 8962 (1) (U!)
Ramos 230 (1) (UEC!)
Ratter & Fonseca 2875 (2) (NY!,
 UEC!)
Ratter & Fonseca 2934 (2) (NY!,
 UEC!)
Ratter 3030 (2) (MBM!, NY!, UEC!)
Regnell (I)298 (2) (LILI, NY!, US!)
Riedel s.n. (2) (L! L0413286)
Riedel s.n. (2) (NY! NY644151)
Romero & al. 926 (2) (HUFU, SP!,
 SPF!)
Romero & al. 5186 (2) (SPF!, UEC!)
Salles 146 (1) (IBGE!)
Salles 146a (1) (IBGE!)
Samp. 6157 (2) (R!)
Santos & Pereira 1818 (1) (CEN,
 SPF!)
Sasaki & al. 391 (2) (SPF!, SPSF!)
Sasaki & al. 91 (2) (SPF!)
Sazima 14670 (2) (UEC!)
Sellow s.n. (2) (L!)
Sem coletor ? s.n. (2) (SP!)
Sem coletor s.n. (2) (SP!)
Sem coletor s.n. (2) (SP, SPF!)
Sem coletor s.n. (2) (SPF!)
Semir & al. 976 (2) (UEC!)
Shepherd & Gibbs 11250 (2) (UEC!)
Shepherd & Shepherd 10952 (2)
 (UEC!)
Shepherd & al. 7397 (2) (UEC!)
Silva & al. 1244 (2) (CEN, SPF!)
Silva & al. 3491 (1) (CEN!)
Silva & al. 3987 (1) (U!)
Smith 167 (1) (K (photo U!))
Smith 6721 (2) (NY!, RI, US!)
Smith & al. 6974 (2) (US!)
Soares & al. 652 (1) (IBGE!, HTINS)
Souza & al. 14726 (1) (ESA!)
Souza & al. 14981 (1) (ESA!)
Souza & al. 7994 (2) (ESA!, UEC!)
Sugiyama & Matovani 195 (2) (SP!)
Swallen 3698 (1) (US!)
Swallen 3750 (1) (US!)
Tameirão Neto 2917 (2) (BHCB!, RB!)
Taxonomy Class of Universidade de
Brasília 370 (1) (US!)
Teixeira s.n. (2) (SP!)
Trinta 573 (2) (R!)
Trovó & al. 470 (1) (SPF!)
Usteri s.n. (2) (SP! SP15849)
Usteri s.n. (2) (SP! SP18639)
Valente & Meira Neto 1510 (2) (SPF!,
 VIC)
Valente & Meira Neto 1668 (2) (VIC!)
Valente & Meira Neto 1669 (2) (VIC!)
Valente & Meira Neto 2084 (2) (SPF!,
 VIC)

Varanda & al. CFR 4543 (2) (K!,
SP!, SPF!)
Vauthier 168 (2) (G!)
Viegas s.n. (2) (IAG, SP!)
Vogel 640 (2) (U!)

Walter & al. 148 (1) (IBGE!, U!)
Walter & al. 1225 (1) (CEN!)
Walter & al. 5075 (1) (CEN, SPF!)
Warming s.n. (2) (NY!)
Williams & Assis 5923 (2) (US!)

Williams & Assis 6120 (2) (US!)
Williams & Assis 6549 (2) (US!)
Williams & Assis 6617 (2) (US!)
Wood & Goyder 16995 (1) (K!)

— CAPÍTULO 7 —



HELIA OBLONGIFOLIA

EXTRAÍDO DE NOVA GENERA ET SPECIES PLANTARUM

**NOVA LECTOTIPIFICAÇÃO DE *HELIA* MART. E REVISÃO
DE *HELIA SENSU STRICTO* (HELIEAE, GENTIANACEAE)**

CAPÍTULO 7

Nova lectotipificação de *Helia* Mart. e revisão de *Helia sensu stricto* (Helieae, Gentianaceae)

Abstract

The existing lectotypification of *Helia* Mart. is questioned based on the difficulties in recognizing the material identity. It is proposed that this lectotype is rejected and superseded by the designation of a new lectotype. *Helia sensu stricto* comprises 2 species that occur in swamps and wet fields in Brazil and Paraguay. They are characterized by their herbaceous habit and greenish-yellow, cream or white, salverform corollas. Morphological descriptions, identification keys, illustrations, and distribution maps are provided.

Key words *Helia*, morphology, nomenclature, revision, typification

Resumo

A lectotipificação de *Helia* Mart. é questionada com base na dificuldade de reconhecimento da identidade do atual lectótipo. Propõe-se que esse lectótipo seja rejeitado e substituído pela designação de um novo. *Helia sensu stricto* compreende 2 espécies que ocorrem em brejos e campos úmidos do Brasil e Paraguai. Caracteriza-se pelo hábito herbáceo e pelas corolas salverformes de coloração amarelo-esverdeada, creme ou alva. São apresentadas descrições morfológicas, chave de identificação e mapas de distribuição.

Palavras-chave *Helia*, morfologia, nomenclatura, revisão, tipificação

Introdução

Helieae é uma tribo de Gentianaceae exclusivamente neotropical. Trata-se de um grupo de plantas morfológica e ecologicamente diverso e com histórico taxonômico bastante complicado. *Helia* Mart., o gênero que tipifica a tribo, variou consideravelmente quanto à sua circunscrição, tendo sido tratado tanto como um gênero amplo (Kuntze, 1891) quanto como um gênero mais restrito (e.g., Gilg, 1895). Além disso, teve suas espécies sinonimizadas em outro gênero, *Irlbachia* Mart. (Maas, 1985), porém tal sinonimização mostrou-se nomenclaturalmente incorreta, devido à prioridade do nome *Helia* sobre *Irlbachia* (Struwe & Albert, 1998). Estudos filogenéticos moleculares auxiliaram na redelimitação de Helieae (Struwe & al., 2002), mas o gênero *Helia* somente foi incluído nas análises mais

recentemente (Struwe & al., 2009). Os resultados dessas análises evidenciaram seu parentesco próximo com algumas espécies do gênero *Chelonanthus* Gilg, indicando a possibilidade de incluir tais espécies em um gênero *Helia* mais amplamente circunscrito. Com o aumento da amostragem das espécies e utilização de novas fontes de evidências (i.e. seqüências moleculares de 5S-NTS e novos dados morfológicos), o relacionamento entre *Helia* e *Chelonanthus* foi novamente sustentado (Calió & al., em prep., Cap. 3). Com base nos resultados desse trabalho filogenético e de dois projetos de doutorado desenvolvidos em colaboração¹, será proposta, futuramente, uma nova e mais ampla circunscrição de *Helia*. No presente capítulo serão descritos e discutidos apenas os resultados obtidos no âmbito do projeto desta Tese de Doutorado.

O presente estudo tem como objetivos: 1) apresentar os problemas quanto à lectotipificação de *Helia* e designar um novo lectótipo para o gênero; 2) apresentar a revisão taxonômica de *Helia s.str.*, com descrições morfológicas, ilustrações e mapas de distribuição das espécies.

Material e métodos

A investigação da morfologia das espécies foi realizada a partir da análise de espécimes vivos durante trabalho de campo e de material proveniente dos seguintes herbários (exsicatas ou fotos): ALCB, BHCB, BR, CESJ*, CTES, ESA*, G, HB*, HUEFS, HUFU, IAC, IBGE, IPA, K, L, LIL, LP, MBM*, NY*, PMSP*, R*, RB*, S, SJRP, SP*, SPF*, SPSF*, U, UB, UEC*, UPCB*, US*, VIC, W* (* indica herbários visitados). Materiais-tipo dos herbários F (*B phototypes*), G, K, M, P foram analisados apenas por meio de fotos. Uma listagem de todos os materiais examinados encontra-se no Apêndice A.

Utilizou-se um microscópio estereoscópico SZ Olympus para observação do material, a mensuração de estruturas diminutas sendo feita com auxílio do retículo micromilimetrado do microscópio, e a de estruturas maiores que 1 cm com auxílio do paquímetro. Apenas estruturas completamente desenvolvidas foram medidas. Previamente à mensuração, as flores foram re-hidratadas em água adicionada de gotas de glicerina e

¹ O estudo da nomenclatura e morfologia do gênero *Chelonanthus* foi desenvolvido pela Dra. Katherine B. Lepis (Rutgers University, NJ, EUA) como parte de seu doutoramento, enquanto o estudo de *Helia*, em sua circunscrição mais estreita, fez parte do projeto da presente Tese de Doutorado e é apresentado neste capítulo. Os resultados obtidos por ambas as teses serão, futuramente, reunidos para produção de um artigo propondo uma nova e mais ampla circunscrição de *Helia*. Ver "Introdução Geral" desta Tese para maior detalhamento.

aquecida em forno de microondas por aproximadamente 40 segundos. A descrição das formas das estruturas, dos padrões de venação e da tipologia das inflorescências seguiram, respectivamente, Radford & al. (1974), Hickey (1979) e Weberling (1989). Dados sobre o *status* de conservação são fornecidos com base nos critérios da IUCN (2001).

A descrição de algumas estruturas morfológicas foi padronizada da seguinte forma: "bractéolas" são as estruturas foliares mais próximas da base do cálice; "pedicelo" é a estrutura caulinar compreendida entre a base do cálice e a bractéola; e "brácteas" são as estruturas foliares que subtendem várias flores, ou apenas uma flor (nesse caso, posicionando-se logo abaixo da bractéola).

Os mapas foram elaborados com o programa ArcGIS 9.2 (ESRI, 2006), utilizando coordenadas obtidas a partir de GPS, fornecidas nas etiquetas de material de herbário, ou a partir do georreferenciamento posterior, feito com base no município de coleta.

Nova lectotipificação de *Helia* Mart.

Em 1827, ao descrever o gênero *Helia*, Martius apresentou, além de dados sobre habitat e etimologia, uma longa descrição morfológica, indicando as características que faziam esse gênero diferenciar-se das espécies tratadas como *Lisianthus*. Seguindo a descrição genérica, Martius descreveu detalhadamente uma nova espécie, *H. oblongifolia*, encontrada na "Província de São Paulo", e ilustrou seu hábito, cálice e corola isolados, corola rebatida evidenciando inserção dos estames, anteras, ovário, fruto e sementes. Seguindo a legenda das características ilustradas, Martius (1827) escreveu a frase "além da espécie descrita, encontra-se em locais semelhantes a seguinte [espécie]" (*Praeter species descriptam similibus locis invenimus sequetem*) para introduzir a segunda espécie, *H. spathulata*, sendo *Lisianthus spathulatus* Kunth seu basônimo. Ao lado do nome dessa espécie, Martius (1827) apresentou o símbolo "†", indicando que se tratava de uma espécie pouco conhecida. Possivelmente por essa razão, o autor descreveu-a apenas com uma frase e ilustrou, com poucos detalhes, somente sua flor, a qual é muito semelhante à ilustração da flor de *H. oblongifolia*. Martius (1827) concluiu a descrição de *H. spathulata* com a seguinte frase: "a mesma espécie trazida do Brasil austral pelo ilustre Sellow" (*Eandem speciem e Brasíliā australi tulit cl. Sellow*). Entretanto, é importante ressaltar que, no protólogo de *L. spathulatus*, Kunth (1819) reconheceu como localidade-tipo uma região próxima ao Rio Orinoco, na Venezuela ("*Crescit locis calidissimus, humidis Insulae Pararumae, in flumine Orinoci*").

Grisebach (1839) apresentou *Lisyanthus* seção *Helia* contendo 6 espécies. Tratou como pertencente a essa seção *Lisyanthus spathulatus* Kunth, indicando ter analisado o

holótipo (*Bonpland 866*). Ao final da descrição dessa espécie, Grisebach escreveu a seguinte observação: "*Helia spathulata* Mart. afasta-se dessa espécie [*L. spathulatus* Kunth] pela forma da corola, anteras eretas, cálice foliáceo, flores agregadas, internós desiguais, habitat diferente [no sentido de localidade de ocorrência]" (*Obs. Helia spathulata Mart.! ab hac specie recedit corollae figura, antheris erectis, calyce foliaceo, floribus aggregatis, internodiis inaequalibus, habito alieno*). Em seguida, Grisebach (1839) apresentou *L. oblongifolius* (cujo basônimo é *Helia oblongifolia*) e *L. brevifolius* [descrita alguns anos antes por Chamisso (1833) como *H. brevifolia*], e descreveu *L. martii*, indicando como basônimo *H. spathulata* Mart., as três com ocorrência restrita ao Brasil. Além disso, Grisebach (1839) indicou ter analisado os materiais das espécies *L. brevifolia* e *L. martii* coletados por Sellow e depositados no "*herb. reg.*". Resumidamente, a opinião de Grisebach era de que o material que Martius analisou (provavelmente uma coleção de Sellow, a julgar pela última frase do protólogo de *Helia*) e descreveu como sendo semelhante a *L. spathulatus* Kunth tratava-se, de fato, de outra espécie. Sendo assim, Grisebach (1839) descreveu *L. martii* e indicou *H. spathulata* Mart como seu sinônimo. De fato, ao examinar o material citado no protólogo de *L. spathulatus* Kunth (*Bonpland 866*, B e foto F), deparamo-nos com um material com flor distinta da ilustrada por Martius como *H. spathulata*, o que corrobora a hipótese de Grisebach de que *L. spathulatus* Kunth não se tratava da mesma espécie que Martius nomeou de *H. spathulata*.

Nomenclator botanicus, escrito por Pfeiffer (1874), é considerado o primeiro livro de referência a indicar sistematicamente espécies-tipo de acordo com o CINB (Stafleu & Cowan, 1983). Nessa obra, Pfeiffer escolheu *Lisianthus spathulatus* Kunth para tipificar *Helia*, apresentando a seguinte observação: "*ελας, quia herba palustris*" – que é exatamente a mesma frase utilizada por Martius (1827) para explicar a etimologia do nome *Helia* por ele criado. Apesar de Pfeiffer (1874) ter citado o trabalho de Grisebach (1839), que evidenciou os problemas com os conceitos da espécie "*L. spathulatus*", não é possível saber se Pfeiffer estava realmente se referindo a *L. spathulatus sensu* Kunth, ou se estava se referindo ao nome que Martius erroneamente utilizou. Portanto, um problema relacionado à lectotipificação proposta por Pfeiffer é a incerteza do material associado ao nome *L. spathulatus*, independentemente da citação do autor Kunth, pois esse nome pode estar associado a *Bonpland 866* (*L. spathulatus* Kunth) ou a *Sellow 1629* (*L. spathulatus* = *L. martii* Grisebach). Entretanto, se for considerado que Pfeiffer estava realmente se referindo a *L. spathulatus* Kunth, cujo tipo é *Bonpland 866*, outro problema emerge.

Durante a análise dos espécimes de *Helia* coletados no Brasil e no Paraguai, não foram encontrados, no presente estudo, exemplares que apresentassem as características morfológicas da coleção *Bonpland 866*. Por outro lado, o estudo de materiais de outros gêneros de Gentianaceae, especialmente os que ocorrem na Venezuela ao longo do Rio

Orinoco (mesma localidade em que foi coletada a coleção *Bonpland 866*), evidenciou a existência de 13 espécimes que são semelhantes à referida coleção (KB Lepis, com. pess.). O que impede a confirmação da identidade desses exemplares é o péssimo estado de conservação do material remanescente da coleção *Bonpland 866*, que era composta por duas exsicatas, uma delas destruída durante a Segunda Guerra Mundial. Entretanto, mesmo se fosse possível identificar esses 13 materiais como conspecíficos de *L. spathulatus* Kunth (tipificada pela coleção *Bonpland 866*), nos depararíamos com mais um problema.

O estudo do gênero *Chelonanthus* Gilg reconheceu 10 espécies (Lepis, 2009). Os 13 exemplares supracitados, analisados na revisão de Lepis (2009), possuem características morfológicas intermediárias entre algumas das espécies de *Chelonanthus*, não sendo possível atribuir um nome específico a esse conjunto de materiais. Presume-se que os mesmos possuam natureza híbrida (Lepis, 2009). Se esse fato for confirmado, a coleção *Bonpland 866* representaria um conjunto de espécimes híbridos, ao qual não é possível atribuir o *status* de espécie.

Dessa forma, com base em 1) incerteza quanto à identidade do nome utilizado para lectotipificação de *Helia* Mart. (*L. spathulatus sensu* Kunth × *L. spathulatus sensu* Martius), 2) impossibilidade de confirmação da identidade do atual lectótipo devido ao seu precário estado de preservação e 3) sua possível origem híbrida e conseqüente impossibilidade de atribuição de *status* específico, propomos que a lectotipificação feita por Pfeiffer (1874) seja rejeitada e substituída pela designação de um novo lectótipo para o gênero *Helia*.

Uma vez que *Helia oblongifolia* foi a espécie em que Martius (1827) fundamentalmente se baseou para descrever o gênero *Helia*, acreditamos que a lectotipificação desse gênero com essa espécie seja assaz adequada. Além disso, o holótipo de *H. oblongifolia* ainda existe e apresenta-se íntegro.

Revisão de *Helia sensu stricto*

Helia Mart., Nov. Gen. sp. pl. 2(2): 122 – Tipo: *Helia oblongifolia* Mart. (novo lectótipo, aqui designado).

O conceito de *Helia* s.l. ainda está sendo desenvolvido, pois o gênero passará a incluir mais nove espécies anteriormente tratadas como *Chelonanthus*. Nesta seção é apresentada somente uma breve descrição para caracterização geral das duas espécies tratadas como *Helia* s.str.

As espécies de *Helia* s.str. são ervas provavelmente anuais. O caule é cilíndrico e não apresenta costelas ou alas. As folhas são sésseis, verde-brilhantes e subcarnosas,

tornando-se quebradiças quando secas. A base das folhas é conata, a margem é hialina e o ápice é arredondado. Entre a base das folhas, envolvendo o caule, encontra-se uma ócrea, mais evidente nos ramos de maior espessura. As inflorescências são freqüentemente congestas e os botões florais apresentam ápice arredondado. O cálice é verde e apresenta distinta região nectarífera na região dorsal dos cinco lobos, que apresentam margem hialina e ápice arredondado. A corola é salverforme e apresenta coloração freqüentemente amarelo-esverdeada. O tubo da corola é bastante estreito e usualmente possui uma região mais alargada, que corresponde, internamente, ao local em que se situam as anteras. São cinco os lobos da corola; apresentam ápice arredondado e uma mancha na porção mais distal do ápice, normalmente de coloração esverdeada. O androceu é formado por cinco estames heterodínamos; as anteras podem ou não apresentar-se recurvadas e portam, em seu ápice, um apêndice estéril muitas vezes pouco conspícuo. O pólen é liberado em tétrades e possui exina grosseiramente reticulada na região equatorial e finamente reticulada a perfurada nos pólos distais (Nilsson, 2002). O gineceu é formado por um ovário verde, súpero, bicarpelar, bilocular, com placentação parietal. O estilete, cilíndrico, longo e delgado, é encimado por dois lobos estigmáticos. O estilete, a corola e o cálice são persistentes no fruto, que é uma cápsula amarronzada, com muitas sementes.

Chave para as espécies de *Helia sensu stricto*

1. Folhas da base agrupadas em roseta; inflorescência com 1–14 flores; bractéolas e lobos do cálice com margem inteira; comprimento da corola 3.2–4.5 vezes maior que o do cálice **1. *H. brevifolia***
- 1'. Folhas da base não agrupadas em roseta; inflorescência com 5–54 flores; bractéolas e lobos do cálice com margem serrilhada; comprimento da corola 1.9–2.8(–3.0) vezes maior que o do cálice **2. *H. oblongifolia***

1. ***Helia brevifolia*** Cham., Linnaea 8: 11. 1833 ≡ *Lisianthus brevifolius* (Cham.) Griseb., Gen. sp. Gent., 187. 1839 – Citação do tipo: "Brasilia", s.d., *Sellow s.n.* – Holótipo: B [destruído, foto F!]; lectótipo (aqui designado): L (foto SPF!); W!

Ervas, 18–45 cm alt. *Caule* 0.9–4.5 mm diâm. na base da planta, 1–3.7 mm diâm. abaixo das flores, internós 1.5–15 mm compr. na base (com roseta basal), 37–200 mm compr. abaixo das flores. *Folhas* sésseis, ócrea 2–6 mm compr.; lâmina elíptica a largamente elíptica, lanceolada ou obovada, 15–70 × 5.2–37 mm, base conata, ápice arredondado; 2–3

pares de nervuras secundárias, nervuras terciárias conspícuas, reticuladas. Flores 1–14; brácteas foliáceas ou escamiformes, ovadas a largamente ovadas, 5–6.2 × 2.2–5 mm, base truncada ou conata, margem inteira, ápice arredondado; bractéolas escamiformes, ovadas, 2.5–3 × 1.2–1.6 mm, base truncada ou conata, margem inteira, ápice arredondado; pedicelo 1.5–3.5 × 1.4–1.5 mm. Cálice 6–8.5 × 3.8–6 mm; tubo 2.5–3 mm compr.; lobos 5, elípticos ou ovados a muito largamente ovados, 4–5.3 × 2.5–4.5 mm, margem inteira, ápice arredondado. Corola alva, creme, amarela-sulfurina a esverdeada, sem guias de nectários, salverforme, 20–30 mm compr., 3.2–4.5 vezes maior que o cálice; tubo c. 22 mm compr., 2–2.5 mm larg. na base, 1.5–3.3 mm larg. abaixo da inserção dos estames, 6.5–13 mm larg. no ápice; lobos 5, elípticos a largamente elípticos ou muito largamente ovados, 4.5–8.5 × 3–7.7 mm, margem inteira, ápice arredondado, com mancha esverdeada. Estames 5; filetes amarelados, 3.2–6.5 mm compr.; anteras alvas a amareladas, estreitamente elípticas, c. 2 × 0.8 mm, apêndice estéril c. 0.1 mm compr. Ovário verde, elipsóide ou ovóide, 4.5–6 × 2.4–4 mm; estilete amarelo-esverdeado, 4.5–7 × 0.3–0.8 mm; lobos do estigma amarelo-esverdeados, estreitamente elípticos, 2.5–3 × 0.5 mm. Fruto ovóide, 8–12 × 4.7–8 mm (Fig. 1, Fig. 3).

Etimologia e nomes populares. — O epíteto específico escolhido por Chamisso (1833) para nomear essa espécie claramente se refere às folhas, que costumam ser proporcionalmente mais largas quando comparadas às folhas de *H. oblongifolia*. É denominada popularmente genciana-do-campo (Fabris & Klein, 1971) ou genciana-da-terra (Pio-Correa, 1926).

Taxonomia. — Apesar da foto do holótipo destruído evidenciar o número do coletor, o protólogo não menciona nenhuma numeração. Por essa razão, optou-se por lectotipificar a espécie com um material do herbário L, que se encontra bem preservado.

Distribuição, habitat e conservação. — Ocorre do Rio Grande do Sul a Minas Gerais, mas principalmente no Paraná e em São Paulo. Foi coletada também em Goiás, Mato Grosso do Sul e Paraguai (Fig. 5A). É encontrada em áreas brejosas, campos com solos úmidos e freqüentemente arenosos, e mais raramente em pastos, entre 590 e 1800 m de altitude. Não é categorizada como ameaçada segundo os critérios da IUCN (2001).

Morfologia e fenologia. — As características que mais se destacam em *H. brevifolia* são as folhas organizadas em roseta na base da planta e as poucas flores na inflorescência. É encontrada com flores e frutos praticamente o ano todo.

Material selecionado. — Aproximadamente 120 coleções analisadas (relação completa no Apêndice A). PARAGUAI: Cordillera de Altos, iii.1902, *Fiebrig 577* (F!, LI). CAAGUAZÚ: iii.1905, *Hassler 9372* (G, NY!, SI, WI!); a 25 km al norte de Caaguazú el borde de un estero, s.d., *Casas & al. 7549* (NY!); Ihú, 24.i.1957, *Sparre & Vervoerst 2061* (LIL!). SAN PEDRO: Lima, Carumbé, 25.ii.1975, Pedersen 11090 (U!). YERBALES: Sierra de Maracayú, xii.1900, *Hassler 5686* (G, K!, NY!, SI, WI!). BRASIL, DISTRITO FEDERAL: Brasília, a 5 km W de Brasília, 19.iii.1966, *Irwin & al. 14120* (NY!). GOIÁS: Jataí, Rio Bom Sucesso, 17.xi.1973, *Hatschbach & Koczicki 33351* (MBM!, U!). MINAS GERAIS: Caldas, 20.i.1876, *Mosén 4256* (S(2)!); Carandaí, 28.xi.1946, *Duarte 680* (RB!); Carmo da Cachoeira, Rodovia Fernão Dias, km 677, 2.i.1996, *Souza & al. 297* (ESA!, SPF!); Itabirito, Pico do Itabirito, 29.iii.1994, *Teixeira 23930* (U!). MATO GROSSO DO SUL: Campo Grande, APA Guariroba, 8.x.1997, *Resende & al. 1185* (CGMS!). MATO GROSSO: Rio Sapé, 9.x.1938, *Rombouts 251* (IAC!, SP!). PARANÁ: Alto Paraná, Alto Paraná, 7 km al sur de Villa Fortuna, en un estero grande, 31.i.1982, *Casas & Molero 5770* (NY!); Campo Largo, Serra São Luís de Purunã, 23.ii.1960, *Pereira 5445* (HB!, LP!); Castro, Campos de Castro, Estrada do Cerne, km 116-117, 9.i.1947, *Hatschbach 582* (MBM!, RB!); Guaratuba, Serra do Araçatuba, 21.i.1994, *Kummrow & Cordeiro 3391* (ESA!, HUEFS!, MBM); Ipiranga, Faxinal do Tanque, 20.xii.1970, *Hatschbach 25893* (SI!); Jaguariaíva, Rio das Mortes, 29.xi.1993, *Cervi & al. 4187* (NY!, UPCB!); Monte-Alegre (Cidade Nova), 13.xii.1951, *Mattos s.n.* (MBM!); Palmeira, Capão da Índia, 12.xii.1998, *Dunaiski Jr. & Johanson 1000* (UPCB!); Pinhão, Rondinha, 24.ii.1996, *Hatschbach & Ziller 64500* (MBM!, SPF!); Pirai do Sul, Serra das Furnas, Rod. PR-090, 12.i.2000, *Hatschbach & al. 69886* (BHCB!, MBM!); Ponta Grossa, Fazenda Cabrijumos, 21.xii.2000, *Cervi & Tardio 8113* (UPCB!); São José dos Pinhais, BR-277, próximo ao Rio Pequeno, 15.ii.1995, *Silva 1434* (MBM!); São Mateus do Sul, Rio Potinga, 16.xii.1956, *Hatschbach 3617* (LIL!, MBM, US!); Tibagi, Guartelá, 23.xii.1992, *Cervi 4000* (UPCB!); Tijucas do Sul, Campo Comprido, 13.iii.1991, *Kummrow & Cordeiro 3256* (HUEFS!, MBM). RIO GRANDE DO SUL: Cruz Alta, 16.i.1902, *Malme 1118* (S(2)!). SANTA CATARINA: Campo Alegre, Morro do Iquererim, 10.i.1958, *Reitz & Klein 6124* (US!); Chapecó, Fazenda Campo São Vicente, 24 km west of Campo Erê, 26-29.xii.1956, *Smith & Sufridini 9431* (NY!, US!); Mafra, 11 km E of Mafra, on the road to Tinguí, 8.xii.1956, *Smith & Klein 8466* (K!, US!); Porto União, Fazenda Frei Rogério, 6.i.1962, *Reitz & Klein 11589* (US!); São Francisco do Sul, Monte Crista, Garuva, 21.xii.1960, *Reitz & Klein 10457* (LI, NY!, US!). SÃO PAULO: Angatuba, estrada para Itatinga, ca. 30 km de Angatuba, Bairro Santo Inácio, 27.iv.1996, *Souza & al. 534* (ESA, UEC!); Campos do Jordão, Umarama, 29.i.1935, *Kuhlmann s.n.* (SP!, SPF!); Itararé, Alta da Ventania, Banhado, Colônia de resinagem, 9.ii.1991, *Scaramuzza & Souza 673* (ESA, MBM!, SP!); Itirapina, beira da estrada, próximo ao pedágio após a entrada da Estação Ecológica de Itirapina, 25.xi.2006, *Trovó & al. 316* (SPF!); São José do Barreiro, Serra da Bocaina, Pousada Recanto da Floresta, km 24.5 da Rodovia Estadual da Serra da Bocaina, 22°43'8.4"S 44°36'57.3"W, 8.ii.2008, *Serafim 27* (SPF!); São Paulo, Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Curucutu, Beira da trilha da Cachoeira, 23°59'42.2"S 46°44'11.4"W, 27.xi.2006, *Calió & al. 168* (SPF!); São Paulo, Butantã, 10.xii.1917, *Hoehne s.n.* (SP!).

2. *Helia oblongifolia* Mart., Nov. Gen. sp. pl. 2(2): 123, tab. 191. 1827 ≡ *Lisianthus oblongifolius* (Mart.) Griseb., Gen. sp. Gent., 187. 1839 ≡ *Irlbachia oblongifolia* (Mart.) Maas, Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. C. 88(4): 410. 1985 – Citação do tipo: "Brasil, São Paulo", s.d., *Martius 468* – Holótipo: M [foto SPF!].

= *Helia martii* (Griseb.) Gilg in Engler & Prantl Nat. Pflanzenfam. 4(2): 101. 1895 = *Lisianthus martii* Griseb., Gen. sp. Gent., 187. 1839 – Citação do tipo: "Brasília", s.d., *Sellow 1629* – Holótipo: B [destruído, foto F!]; lectótipo (aqui designado): K excluído ramo com folhas de ápice agudo [foto SPF!].

= *Helia loeseriana* Gilg, Bot. Jahrb. Syst. 22: 346. 1896 – Citação do tipo: "Brasil, [Minas Gerais], Cachambú", 26 janeiro 1886, *Glaziou 16264* – Holótipo: B [destruído, foto F!]; lectótipo (aqui designado): P [imagem digitalizada da exsicata!]; G [foto SPF!], R!.

= *Helia micrantha* Gilg, Bot. Jahrb. Syst. 22: 347. 1896 – Citação do tipo: "Paraguay, Caaguazu", 7 Março 1876, *Balansa 2141* – Holótipo: B [destruído, foto F!]; lectótipo (aqui designado): G [foto SPF!]; G [foto SPF!], S [foto SPF!].

= *Helia crispiflora* Hassl., Addenda Pl. Hassl. 1: 5. 1917, nom. nud.

Ervas, 40–120 cm alt. *Caule* 1.7–6.6 mm diâm. na base da planta, 1.6–4 mm diâm. abaixo das flores, internós 12–25 mm compr. na base (sem roseta basal), 70–330 mm compr. abaixo das flores. *Folhas* sésseis, ócrea 2–6 mm compr.; lâmina estreitamente elíptica a elíptica ou oblanceolada, 11–93 × 5.5–36 mm, base conata, ápice arredondado; 1–2 pares de nervuras secundárias, nervuras terciárias conspícuas, reticuladas. *Flores* 5–54; brácteas foliáceas ou escamiformes, estreitamente elípticas ou lanceoladas a ovadas, 2.4–6 × 1.8–6 mm, base truncada ou conata, margem inteira, ápice arredondado; bractéolas escamiformes, lanceolares a ovadas ou triangulares, 2.5–5 × 1.5–2.2 mm, base truncada ou conata, margem serrilhada, ápice agudo; pedicelo 3–9 × 1–1.5 mm. *Cálice* 6–10.5 × 3.5–7 mm; tubo 3–3.5 mm compr.; lobos 5, elípticos a largamente elípticos ou largamente ovados a muito largamente ovados, 3–6 × 2.2–4 mm, margem serrilhada, ápice arredondado. *Corola* creme, amarela-sulfurina a esverdeada, sem guias de nectários, hipocrateriforme, 13–26 mm compr., 1.9–2.8(–3.0) vezes maior que o cálice; tubo 14–16 mm compr., 1.7–2.5 mm larg. na base, 2–2.7 mm larg. abaixo da inserção dos estames, 4–4.5 mm larg. no ápice; lobos 5, largamente elípticos ou largamente ovados a muito largamente ovados, 3–4.5 × 2.5–4 mm, margem inteira, erosa ou levemente erosa, ápice arredondado, com mancha esverdeada. *Estames* 5; filetes amarelados, 3–5 mm compr.; anteras amareladas, estreitamente elípticas, 1.5–3.2 × 0.8–1 mm, apêndice estéril 0.14–1.3 mm compr. *Ovário* verde, ovóide, 3.5–6 × 1–3 mm; estilete esverdeado, 5.5–7 × 0.4–0.9 mm; lobos do estigma esverdeados, estreitamente elípticos, c. 2.5 × 0.8 mm. *Fruto* ovóide, 10–16 × 5–6 mm (Fig. 2, Fig. 4).

Etimologia e nomes populares. — O epíteto específico refere-se às folhas em geral estreitamente elípticas a elípticas (oblongas a oblongo-lanceoladas, segundo Martius, 1827). Popularmente, é denominada genciana-do-campo (Cordeiro, 2005).

Taxonomia. — Apesar das descrições de *H. martii* (Grisebach, 1839), *H. loeseriana* e *H. micrantha* (Gilg, 1896) relatarem diferenças morfológicas entre essas espécies e *H. oblongifolia*, as coleções-tipo das referidas espécies não diferem significativamente das coleções de *H. oblongifolia* e, por essa razão, as três primeiras espécies foram sinonimizadas neste último nome. Apenas um isótipo de *H. martii* foi encontrado, sendo então utilizado na lectotipificação. Entretanto, trata-se de uma coleção misturada: há um ramo com folhas, no qual há uma etiqueta com o número 1629 (o mesmo do holótipo), e um ramo com inflorescência, ambos apresentando as mesmas características descritas no protólogo e idênticas às do holótipo destruído; há, entretanto, um ramo adicional com folhas de ápice agudo que claramente não pertence à mesma espécie. *Helia loeseriana* foi lectotipificada com a coleção de P, pois esta última apresenta melhor estado de preservação. Foram encontradas algumas coleções disponíveis para lectotipificação de *H. micrantha*; a escolha por um dos materiais do G baseou-se na etiqueta em que se lê "*Helia micrantha* Gilg", com a grafia do próprio Gilg. O nome *Helia crispiflora* foi apresentado por Hassler (1917), que se referiu à coleção "*Hassler 3734*"; entretanto, a espécie não foi validamente publicada, pois o autor não apresentou diagnose.

Distribuição, habitat e conservação. — É encontrada principalmente nos estados de Minas Gerais e São Paulo, mas há referências mais esparsas para Goiás, Bahia, Mato Grosso do Sul, Rio Grande do Sul e Paraguai (Fig. 5B). Ocorre nos mesmos tipos de solo e habitat em que ocorre *H. brevifolia*, entre 800 e 1300 m de altitude. Segundo os critérios da IUCN (2001), essa espécie não se enquadra como ameaçada.

Morfologia e fenologia. — *H. oblongifolia* caracteriza-se pelas folhas longas, freqüentemente em grande quantidade, e pelo grande número de flores na inflorescência. É encontrada com flores e frutos de outubro a maio.

Material selecionado. — Aproximadamente 50 coleções analisadas (relação completa no Apêndice A). PARAGUAI, ALTO PARANÁ: Reserva Biológica Limony de Itaipu Binacional, 25°51'S 54°33'W, 18.iv.1968, *Brunner & Caballero 1905* (MO!). BRASIL, BAHIA: Cocos, Fazenda Trijunção, estrada para a Sede do Guará, próximo a um curral com caixa d'água/catavento, 14°45'4.0"S 45°55'15"W, 11.xii.2001, *Walter & al. 4912* (CEN, IBGE!, US); Rio de Contas, Pico das Almas, Vertente leste, 9-11 km ao N-O da cidade, 13°32'S 41°53'W, 6.xi.1988, *Harley & al. 25924* (K, NY!). DISTRITO FEDERAL: Brasília, Parque do Gama, 12.vi.1976, *Davis 60169* (UEC!). GOIÁS: Alto Paraíso de Goiás, 11 km N, 1.iii.1982, *Oliveira & Anderson*

485 (MBM!, U!); Goiania, xii.1936, *Brade 15418* (RB!). MINAS GERAIS: Carmo do Rio Claro, Fazenda Renascência, 1.ix.1961, *Andrade & Emmerich 978* (HB!); Entre Rios de Minas, Bom Jardim dos Coelhos, 17.xii.1992, *Carvalho 333-B* (UPCB!,VIC!); Gouveia, Rodovia Diamantina -Gouveia (BR 259) a 27 km de Diamantina, 300 m sul do entroncamento para Datas, a oeste da rodovia, 18°25'3.0"S 43°41'36.8"W, 21.i.2007, *Calió & al. 205* (SPF!); Joaquim Felício, Serra do Cabral, 21.x.1999, *Hatschbach & al. 69468* (MBM!); Patrocínio, Serra do Salitre, margem norte da Lagoa Campestre, 22.iii.1994, *Ceccantini 180* (SPF!); Pouso Alegre, 2.v.1927, *Hoehne s.n.* (SP!); Santa Luzia, Serra do Cipó, 25.xi.1938, *Mello-Barreto 8509* (F!); Santana do Riacho, campo próximo ao capão dos palmitos, 11.xii.2006, *Santos & al. 108* (SPF!); São Sebastião do Paraíso, Fazenda Fortaleza, 20.iv.1945, *Brade & Barbosa 17694* (RB!, U!); Uberaba, 18.i.1849, *Regnell II-1901* (S(3)!, US!); Uberlândia, Reserva do Clube de Caça e Pesca Itororó, 14.xi.1997, *Araújo & Barbosa 1740* (HUFU!). RIO GRANDE DO SUL: Gravataí, Morungava, 28.i.1915, *Dusén 16537* (S(2)!). SÃO PAULO: Jundiaí, Fazenda Traviú, 15.i.1941, *Pickel s.n.* (IPA!); Lageado, 2.iii.1913, *Brade 6132* (S(2)!); Monte-Mór, estrada Monte-Mór-Campinas, 29.iii.1939, *Viegas & al. s.n.* (IAG, SP!); São Paulo, Pinheiros, 8.iii.1914, *Brade 6965* (SP!, SPF!).

Referências bibliográficas

- Calió, M.F., Pirani, J.R. Struwe, L. & Lepis, K.B., em prep. Estudo filogenético de *Helieae* (Gentianaceae) com ênfase nos limites genéricos de *Calolisianthus* Gilg, *Chelonanthus* Gilg e *Helia* Mart., baseado em dados moleculares e morfológicos. A ser submetido a *Molecular Phylogenetics and Evolution*.
- Chamisso, L.K.A. 1833. Spicilegium plantarum e familiis jam prius recensitis, praesertim brasiliensium serius a Sellowio missarum. *Linnaea* 8(1): 7–17.
- Cordeiro, I. 2005. Gentianaceae. Pp. 211–222 in: Wanderley, M.G.L., Shepherd, G.J., Melhem, T.S., Giulietti, A.M. (eds.), *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*, vol. 4. FAPESP, São Paulo.
- ESRI, Environmental Systems Research Institute, INC. 2006. ArcGis – ArcView Desktop 9.2.
- Fabris, H.A. & Klein, R.M. 1971. Gentianaceae. Pp. 3–30 in: Reitz, P.R. (ed.), *Flora Illustrada Catarinense*, parte 1, fascículo GENC. Herbário "Barbosa Rodrigues", Itajaí.
- Gilg, E. 1895. Gentianaceae. Pp. 50–108 in: Engler, H.G.A. & Prantl, K.A.E. (eds.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, vol. 4(2). Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- Gilg, E. 1896. Beiträge zur Kenntnis der Gentianaceae I. *Bot. Jahrb. Syst.* 22: 301–347.
- Grisebach, A.H.R. 1839 [1838]. *Genera et species plantarum*. J.G. Cotta, Stuttgart and Tübingen.
- Hassler, E. 1917. *Addenda ad Plantas Hasslerianas: familiae genera et species pro flora paraguariensi nova vel in Plantis Hasslerianis I et II haud enumerata*. Parte 1. A. Kundig, Geneva.
- Hickey, L.J. 1979. A revised classification on the architecture of dicotyledonous leaves. Pp. 25–39 in: Metcalfe, C.R. & Chalk, L. (eds.) *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. 1. Ed. 2. Clarendon Press, Oxford.
- IUCN 2001. IUCN Red List categories and criteria. Version 3.1. IUCN, Gland, Switzerland &

- Cambridge, U.K.
- Kunth, C.S. 1819 [1818]. *Gentianaceae (Lisianthus)*. Pp. 180–185 in: Humboldt, A., Bonpland, A. & Kunth, C.S. (eds.), *Nova Genera et Species Plantarum*, vol. 3. Paris, Lutetiae Parisiorum.
- Kuntze, C.E.O. 1891. *Revisio generum plantarum*, vol. 2. Arthur Felix, Leipzig.
- Lepis, K.B. 2009. *Evolution and systematics of Chelonanthus (Gentianaceae)*. Dissertation. Rutgers The State University of New Jersey, New Brunswick.
- Maas, P.J.M. 1985. Nomenclatural notes on neotropical Lisyantheae (Gentianaceae). *Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch.*, ser C, 88: 405–412.
- Martius, C.F.P. von. 1827. *Nova genera et species plantarum quas in itinere per Brasiliam*, vol. 2, parte 2. V. Wolf, München.
- Nilsson, S. 2002. Gentianaceae – a review of palynology. Pp. 377–497 in: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae – systematics and natural history*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Pfeiffer, L.K.G. 1874. *Nomenclator botanicus*. vol. 1, parte altera. Cassellis, Sumptibus Theodori Fischeri.
- Pio-Corrêa, M. 1926. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das plantas cultivadas*, vol. 3, F–G. Ministério da Agricultura, Rio de Janeiro.
- Radford, A.E., Dickson, W.C., Massey, J.R. & Bell, C.R. 1974. *Vascular plant systematics*. Harper & Row Publishers, New York, Evanston, San Francisco, London.
- Stafleu, F.A. & Cowan, R.S. 1983. *Taxonomic Literature: A selective guide to botanical publications and collections, with dates, commentaries and types*. 2nd much enlarged ed. v. 4. Utrecht/Antwerpen, Bohn, Scheltema & Holkema; Boston, W. Junk b.v., Publishers, The Hague.
- Struwe, L. & Albert, V.A. 1998. *Lisianthus* P.Br., its probable homonym *Lisyanthus* Aubl. (Gentianaceae) and the priority of *Helia* Mart. over *Irlbachia* Mart. as its substitute. *Harvard Pap. Bot.* 3(1): 67–71.
- Struwe, L., Albert, V.A., Calió, M.F., Frasier, C., Lepis, K.B., Mathews, K.G., Grant, J.R. 2009. Evolutionary patterns in neotropical Helieae (Gentianaceae): evidence from morphology, chloroplast and nuclear DNA sequences. *Taxon* 58(2): 479–499.
- Struwe, L., Kadereit, J., Klackenberg, J., Nilsson, S., Thiv, M., von Hagen, K.B. & Albert, V.A. 2002. Systematics, character evolution and biogeography of Gentianaceae, including a new tribal and subtribal classification. Pp. 21–309 in: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae – Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Weberling, F. 1989. *Morphology of flowers and inflorescences*. Cambridge University Press. New York.

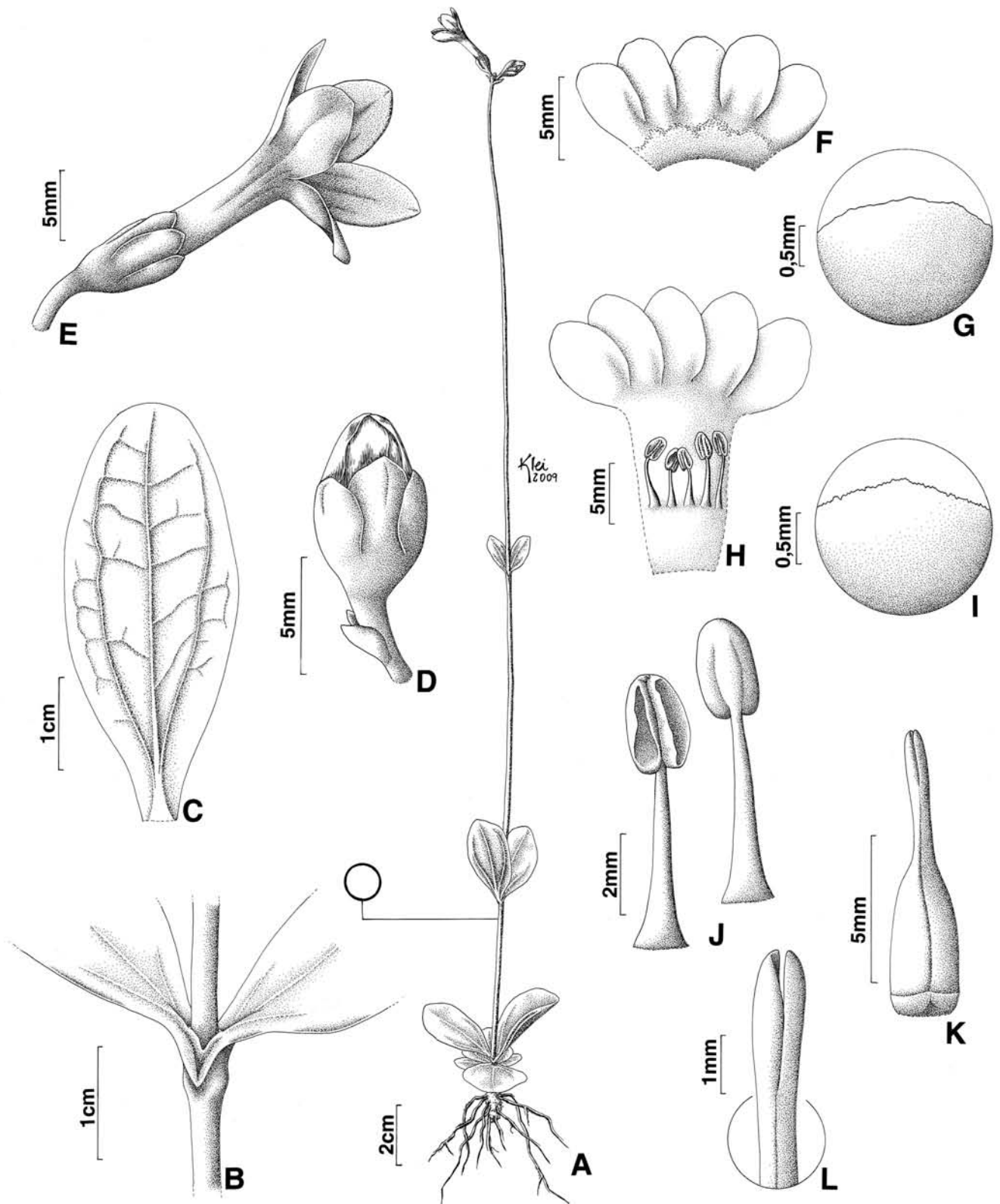


Fig. 1. *Helia brevifolia*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C, face abaxial da folha; D, botão floral; E, flor, visão lateral; F, cálice rebatido; G, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; H, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; I, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; J, estames (faces abaxial e adaxial); K, gineceu; L, detalhe do estigma. Todos desenhados a partir de *Trovó & al. 316* (SPF), exceto (A) e (D) de *Calió & al. 169* (SPF).

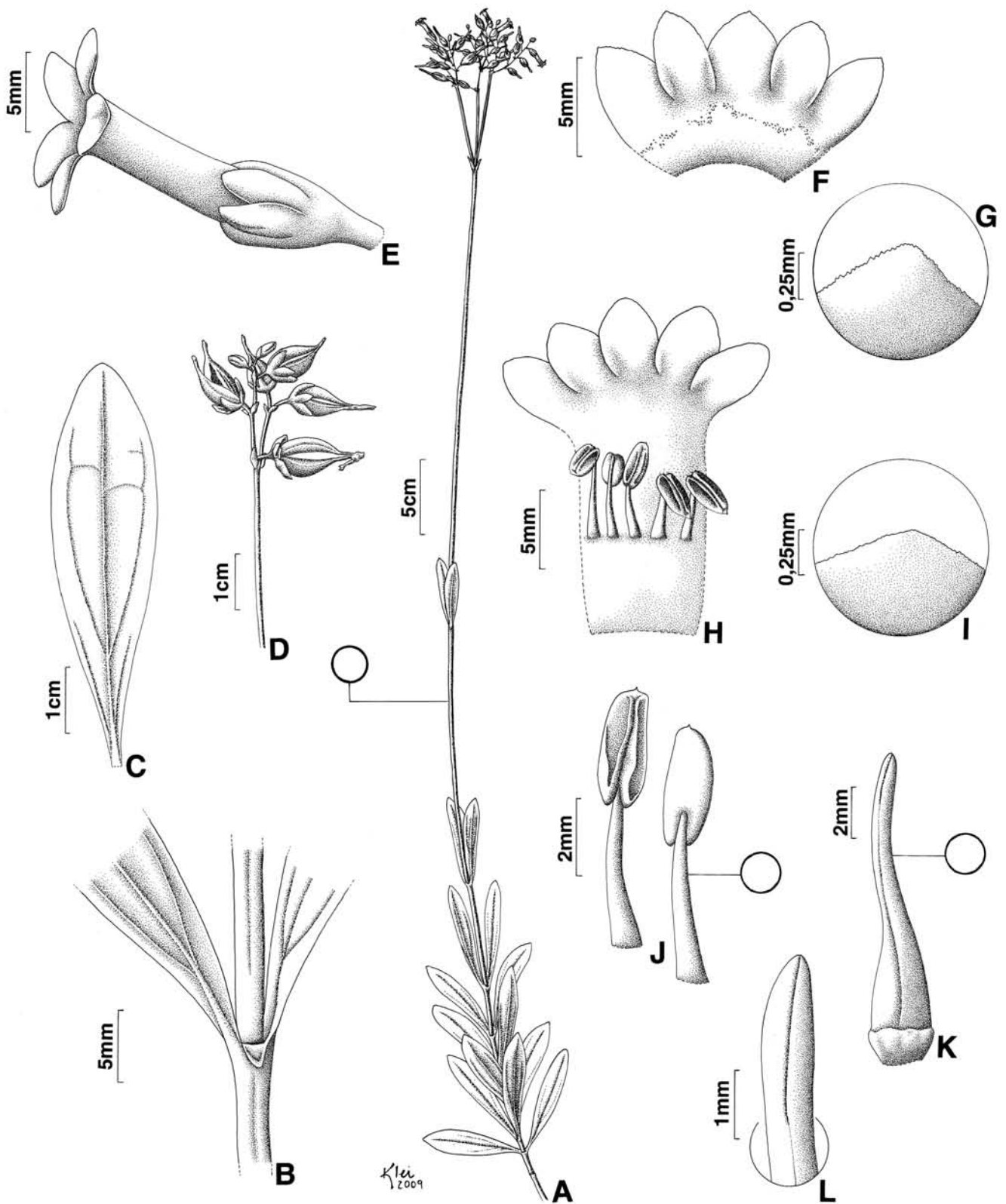


Fig. 2. *Helia oblongifolia*. A, hábito, com representação esquemática da seção transversal do caule; B, detalhe do nó; C, face abaxial da folha; D, inflorescência; E, flor, visão lateral; F, cálice rebatido; G, detalhe do ápice e margem do lobo do cálice; H, corola rebatida, evidenciando inserção e tamanho desigual dos estames; I, detalhe do ápice e margem do lobo da corola; J, estames (faces abaxial e adaxial); K, gineceu; L, detalhe do estigma. Todos desenhados a partir de Calió & al. 205 (SPF).



Fig. 3. *Helia brevifolia*. A, hábito; B, folhas dispostas em roseta; C, inflorescência jovem; D, flor, visão lateral; E-F, flor, visão frontal. Fotos: Marcelo Trovó.



Fig. 4. *Helia oblongifolia*. A, hábito; B, inflorescência jovem; C, inflorescência madura; D, flor, visão lateral; E, flor, visão frontal. Fotos: A-B, Richard Winkworth; C-E, Maria Fernanda Calió.

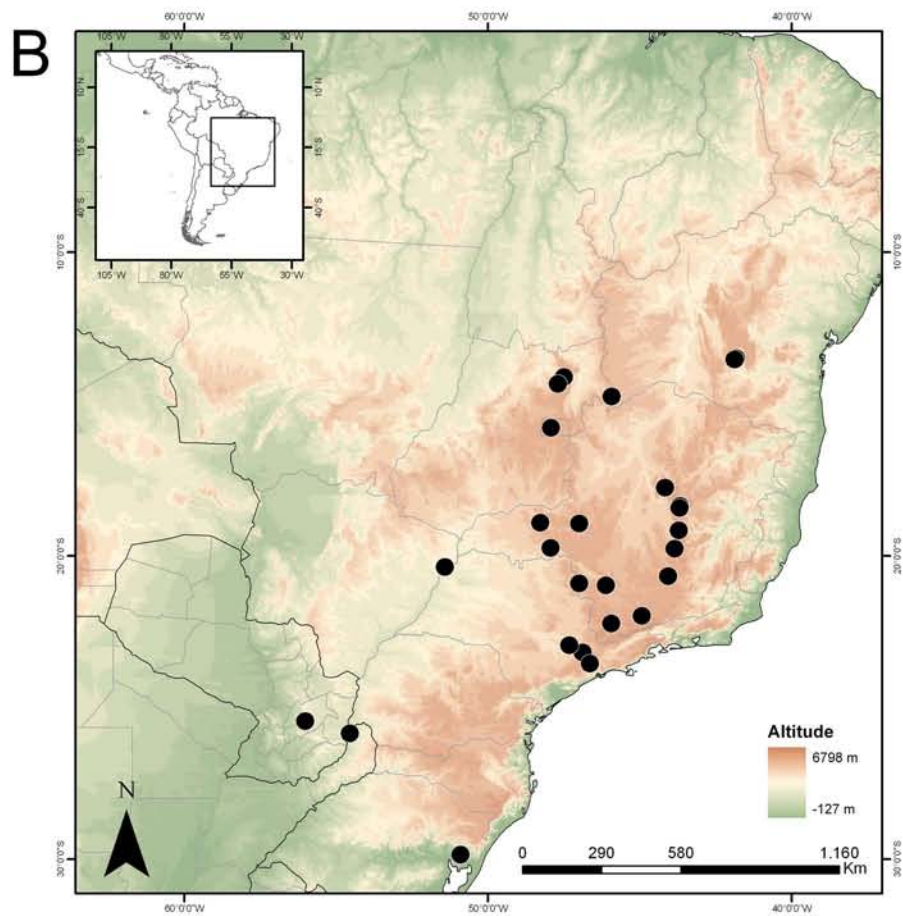
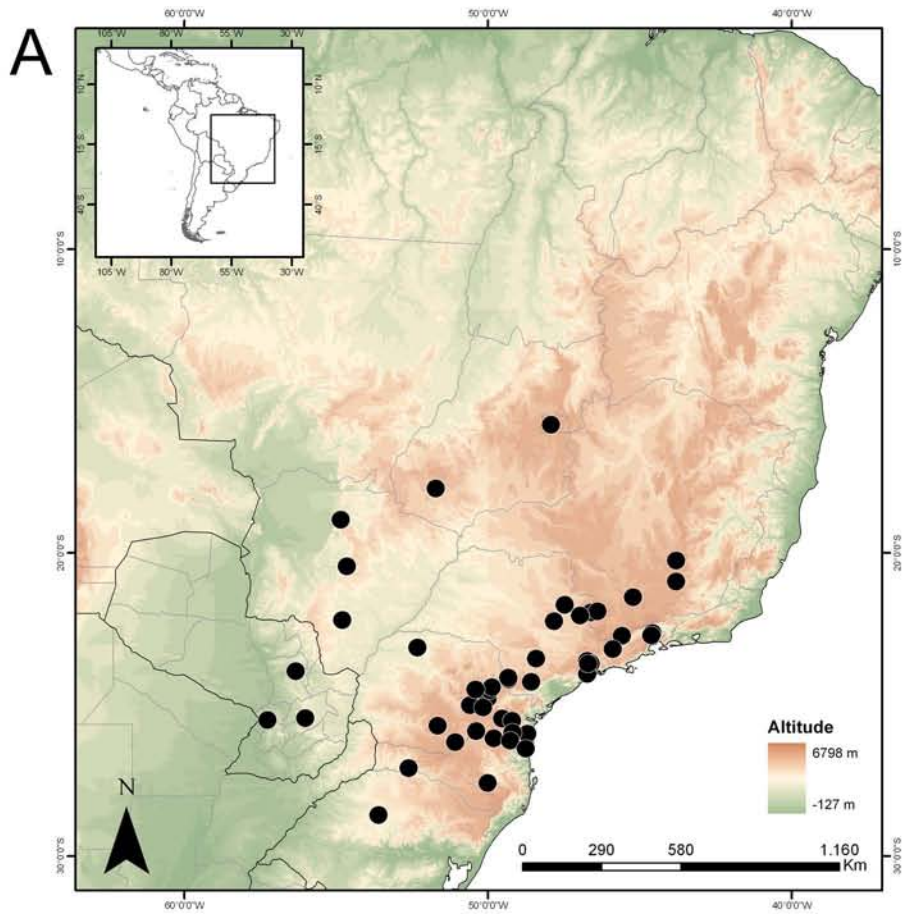


Fig. 5. Distribuição geográfica. A, *Helia brevifolia*; B, *Helia oblongifolia*.

Apêndice A. Lista de exsicatas, indicando coletor e número, número da espécie no tratamento taxonômico e herbários. Negrito = espécimes-tipo; *scan* = imagem digitalizada da exsicata. *Helia brevifolia* = 1; *Helia oblongifolia* = 2

Affonso & Garcia 371 (1) (PMSP!)
Amaral s.n. (2) (HUFU!, RB!)
Andrade & Emmerich 978 (2) (HB!)
Araújo & Barbosa 1740 (2) (HUFU!)
***Balansa* 2141 (2) (B [foto F!], G [2, fotos SPF!], KI, S [foto SPF!])**
Brade & Barbosa 17694 (2) (RB!, U!)
Brade 12234 (1) (R!)
Brade 12235 (1) (R!)
Brade 15418 (2) (RB!)
Brade 19630 (1) (RB!)
Brade 21070 (1) (RB!)
Brade 5550 (1) (HB, SI, SP!)
Brade 6132 (2) (S(2)!)
Brade 6965 (2) (SP!, SPF!)
Brunner & Caballero 1905 (2) (MO!)
Calió & al. 156 (2) (SPF!)
Calió & al. 167 (1) (SPF!)
Calió & al. 168 (1) (SPF!)
Calió & al. 205 (2) (SPF!)
Carvalho 333-B (2) (UPCB!,VIC!)
Casas & Molero 5770 (1) (NY!)
Casas & al. 7549 (1) (NY!)
Castellanos & Heringer 6183 (2) (UB!)
Ceccantini & Alves 1480 (1) (SPF!)
Ceccantini 180 (2) (SPF!)
Cervi & Silva 6248 (1) (UPCB!)
Cervi & Tardio 8113 (1) (UPCB!)
Cervi 4000 (1) (UPCB!)
Cervi & al. 4187 (1) (NY!, UPCB!)
Davis 60169 (2) (UEC!)
Duarte 680 (1) (RB!)
Dunaiski Jr. & Johanson 1000 (1) (UPCB!)
Dusén 16537 (2) (S(2)!)
Dusén 3418 (1) (R!, S(2)!)
Dusén 7621 (1) (KI, NY!, SI, US!)
Dusén s.n. (1) (R! R94732)
Dusén s.n. (1) (R, US! R14737)
Emygdio & Angely 1535 (1) (R!)
Farney 666 (1) (RB!)
Fiebrig 577 (1) (F!, L!)
Fiebrig 6059 (1) (US!)
Freitas & San Martin-Gajardo 1 (1) (UEC!)
Freitas & Sazima 93 (1) (UEC!)
Freitas & Sazima 94 (1) (UEC!)
Freitas 96 (1) (SP!)
Garcia & al. 1384 (1) (PMSP!)
Garcia & al. 1415 (1) (PMSP!, SPF!)
Gehrt s.n. (1) (SP!, SPF!)
***Glaziou* 16264 (2) (B [foto F!], G [foto SPF!], P [scan!], R!)**
Glaziou 8477a (1) (R!)
Harley & Stannard 27646 (2) (KI, SP, SPF!, U!)
Harley & al. 25648 (2) (KI, MBM, NY!, SPF!)
Harley & al. 25924 (2) (K, NY!)
Hassler 3754 (1) (NY!)
Hassler 4839 (1) (NY!, SI!)
Hassler 5686 (1) (G, KI, NY!, SI, WI!)
Hassler 8134 (1) (NY!)
Hassler 8875 (2) (G, NY!, SI, WI!)
Hassler 9372 (1) (G, NY!, SI, WI!)
Hatschbach & Koczicki 33351 (1) (MBM!, U!)
Hatschbach & Ziller 64500 (1) (MBM!, SPF!)
Hatschbach 582 (1) (MBM!, RB!)
Hatschbach 3617 (1) (LIL!,MBM, US!)
Hatschbach 25893 (1) (SI!)
Hatschbach & al. 69468 (2) (MBM!)
Hatschbach & al. 69886 (1) (BHCBI, MBM!)
Hemmendorff 57 (1) (SI!)
Heringer 8112 (2) (NY!)
Heringer & al. 2342 (2) (IBGE, NY!, UEC!)
Hoehne s.n. (1) (MBM, NY!, SP, SPF!, U! SP13732)
Hoehne s.n. (1) (SP! SP1040)
Hoehne s.n. (1) (SP! SP1662)
Hoehne s.n. (1) (SP!, SPF! SPF160471)
Hoehne s.n. (1) (SP, SPF!, U! SP10750)
Hoehne s.n. (2) (SP! SP19341)
Irwin & Soderstrom 5192 (2) (NY!)
Irwin & al. 14120 (1) (NY!)
Irwin & al. 21805 (2) (NY!, SI, UB!)
Irwin & al. 21808a (2) (NY!)
Irwin & al. 32129 (2) (NY, UB!)
Izumisawa & al. 80 (1) (PMSP!, SPF!)
Jorgensen 4837 (1) (F!, NY!, US!)
Krapovickas & Cristóbal 39731 (1) (CTES!)
Krieger 9810 (1) (CESJ!, SPF!)
Krieger s.n. (1) (CESJ!, SPF!)
Kuhlmann s.n. (1) (SP!, SPF!)
Kummrow & Cordeiro 3256 (1) (HUEFS!, MBM)
Kummrow & Cordeiro 3391 (1) (ESAI, HUEFS!, MBM)
Löfgren 428 (1) (RB!, SI!)
Longhi-Wagner & al. 3033 (1) (SPF!, UEC!)
Luederwaldt 267 (1) (SP, SPF!)
Luetzelburg s.n. (1) (R!)
Lutz 38 (1) (R!)
Macedo 266 (2) (SP!)
Malme 1118 (1) (S(2)!)
Martins & al. 16300 (2) (UEC!)
***Martius* 468 (2) (M [foto SPF!])**
Mattos s.n. (1) (MBM!)
Mello-Barreto 8509 (2) (F!)
Mgf & App. 10349 (1) (RB!)
Mosén 4256 (1) (S(2)!)
Oliveira & Anderson 485 (2) (MBM!, U!)
Pedersen 11090 (1) (U!)
Pedersen 11169 (1) (U!)
Pereira & Pabst 8342 (1) (HB!)
Pereira 5445 (1) (HB!, LP!)
Pickel s.n. (2) (IPA!)
Pirani & al. 398 (1) (SP!, SPF!)
Porto 3352 (1) (RB!, U!)
Regnell 360 (1) (SI!)
Regnell 1360 (1) (R!, SI!)
Regnell 1368 (1) (US!)
Regnell III 901 (2) (S(3)!, US!)
Reitz 4613 (1) (US!)
Reitz & Klein 5873 (1) (NY!, SI, US!)
Reitz & Klein 6124 (1) (US!)
Reitz & Klein 10457 (1) (LI, NY!, US!)

Reitz & Klein 11589 (1) (US!)
Reitz & Klein 16589 (1) (HB, LP!)
Resende & al. 1185 (1) (CGMS!)
Ribas & Guimarães 418 (1) (HUEFS!,
MBM)
Ribas & al. 2240 (1) (ALCB!, MBM!)
Rombouts 251 (1) (IAC!, SP!)
Roth 956 (1) (SP!)
Sano & al. 584 (2) (SPF!)
Santos & al. 108 (2) (SPF!)
Scaramuzza & Souza 673 (1) (ESA,
MBM!, SP!)
**Sello 1629 (2) (B [foto F!], K¹
[fotoSPF!])**
Sello 5363 (1) (B [foto F!])

**Sellow s.n. (1) (B [foto F!], LI, W!
L0004843)**
Sellow s.n. (2) (L! L0004844)
Sem coletor s.n. (1) (CESJ!, SPF!
CESJ20507)
Sem coletor s.n. (2) (SP!, SPF!)
Serafim 27 (1) (SPF!)
Shepherd & Vieira 12258 (1) (UEC!)
Silva 1434 (1) (MBM!)
Silva & al. 1873 (1) (MBM!, SJRP!)
Simão-Bianchini & al. 889 (1) (PMSP!,
SP, SPF!, SPSF!, UEC!)
Smith & Klein 10746 (1) (US!)
Smith & Klein 8466 (1) (K!, US!)
Smith & Reitz 8720 (1) (US!)
Smith & Sufridini 9431 (1) (NY!, US!)

Smith & al. 14566 (1) (US!)
Smith & al. 14802 (1) (US!)
Sordi & al. 889 (1) (PMSP!, SPSF!)
Souza & al. 297 (1) (ESA!, SPF!)
Souza & al. 534 (1) (ESA, UEC!)
Sparre & Vervoorst 2061 (1) (LIL!)
Sucre 10457 (1) (U!)
Tannus & Daher 273 (1) (HRCB, SP!)
Teixeira 23930 (1) (U!)
Tombolato s.n. (1) (IAC!)
Trovó & al. 316 (1) (SPF!)
Usteri s.n. (2) (SP!, SPF!)
Viegas & al. s.n. (2) (IAG, SP!)
Walter & al. 4912 (2) (CEN, IBGE!,
US)
Widgren s.n. (1) (BR!, S(2)!)

¹ Excluído ramo com folhas de ápice agudo.

— **CONSIDERAÇÕES FINAIS** —————

Considerações Finais

Como resultado de um esforço conjunto de grupos de pesquisa internacionais, o conhecimento acerca de Helieae (Gentianaceae), uma tribo de plantas neotropicais taxonomicamente complexo, vem crescendo consideravelmente nos últimos anos. Por meio da integração de trabalhos de cunho filogenético e taxonômico, a real diversidade da tribo é aos poucos revelada, bem como se cria a base necessária para inferências acerca de padrões evolutivos e biogeográficos da tribo.

Nesse contexto, a presente Tese de Doutorado teve como principal objetivo estudar as espécies de Helieae cuja ocorrência é endêmica ou está centrada no leste do Brasil. Tais espécies agrupavam-se em quatro gêneros — *Calolisianthus* Gilg, *Helia* Mart., *Prepusa* Mart. e *Senaea* Taub. — e haviam sido muito pouco estudadas até então, já que grande parte das pesquisas envolvendo espécies de Helieae havia sido realizada com base em material proveniente das regiões amazônica e das Guianas.

Prepusa e *Senaea* são gêneros endêmicos a habitats montanos dos estados brasileiros da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. Os dados coligidos durante o desenvolvimento desta Tese constataram o alto grau de endemismo e a restrita distribuição geográfica dessas espécies, o que levou à categorização das mesmas como "Vulneráveis" a "Criticamente em Perigo", segundo os critérios da IUCN. Além disso, empregando dados morfológicos, foi possível reconstruir as relações filogenéticas entre as espécies de *Prepusa* e *Senaea*, que compreendem, respectivamente, 5 e 2 espécies (Capítulo 1). Embora compartilhem atributos morfológicos com as demais Helieae, ambos os gêneros exibem morfologia bastante distinta dos demais, sendo que seu posicionamento na tribo era uma hipótese que carecia de embasamento filogenético.

Análises filogenéticas empregando dados moleculares (i.e, seqüências de *matK*, *trnL* intron, ITS) e morfológicos (127 caracteres estruturais, incluindo dados sobre pólen e semente) corroboraram o posicionamento de *Prepusa* e *Senaea* como grupos-irmãos dos demais gêneros de Helieae (Capítulo 2). Além disso, grande parte das espécies emergiu agrupada em dois cladogramas principais: o subclado "*Macrocarpaea*" (incluindo os gêneros *Chorisepalum* Gleason & Wodehouse, *Macrocarpaea* Gilg, *Tachia* Aubl. e *Zonanthus* Griseb.) e o subclado "*Symbolanthus*" (incluindo diversos gêneros, entre eles *Calolisianthus* e *Helia*). Tais análises também refutaram a monofilia de *Chelonanthus* Gilg e *Irlbachia* Mart. e diagnosticaram possíveis sinapomorfias morfológicas no nível genérico.

Com base em uma maior amostragem de táxons pertencentes ao subclado "*Symbolanthus*" e na inclusão de um novo conjunto de dados moleculares (seqüências de 5S-NTS), prosseguiu-se com a investigação das relações filogenéticas de Helieae (Capítulo

3). As topologias resultantes dessas análises revelaram um quadro consistente das relações entre as espécies da tribo, embasando a proposição de novas circunscrições genéricas para *Calolisianthus*, *Chelonanthus*, *Helia* e *Symbolanthus* G. Don (Capítulo 3).

As espécies tradicionalmente tratadas como *Calolisianthus* emergiram em 2 clados filogeneticamente distantes: um contendo duas espécies (uma delas o lectótipo do gênero); e outro contendo quatro espécies. O estudo taxonômico das espécies de *Calolisianthus* evidenciou que as características morfológicas do lectótipo do gênero contradiziam o protólogo, fato que indicava a necessidade de uma nova lectotipificação. Portanto, com base nos resultados filogenéticos, designou-se um novo lectótipo para *Calolisianthus*, escolhido dentre as espécies que emergiram no clado com maior número de espécies, que condizem com o protólogo (Capítulo 4). A partir dessa nova lectotipificação, o gênero *Calolisianthus*, em sua nova circunscrição contendo apenas 4 espécies, foi revisado (Capítulo 5). Tais espécies são endêmicas dos campos rupestres e cerrados do Brasil e caracterizam-se pelo hábito herbáceo a subarborescente, pelas flores de cor rosa, vermelha, roxo-azulada ou lilás, e pelas tétrades polínicas com exina reticulada, apresentando ilhas de retículo mais espessado.

As outras duas espécies tradicionalmente tratadas como *Calolisianthus* emergiram juntamente com *Chelonanthus purpurascens*, o tipo de *Chelonanthus*, formando um clado fortemente sustentado. Com base nesses resultados filogenéticos, ambas foram transferidas para esse gênero (Capítulo 6). As outras espécies de *Chelonanthus*, informalmente denominadas "*Chelonanthus* de flores verdes", emergiram em um grande clado filogeneticamente distante de *Chelonanthus purpurascens*, juntamente com *Adenolisianthus arboreus*, um gênero monoespecífico, e as duas espécies tradicionalmente tratadas como *Helia* (i.e. *Helia s.str.*). Os integrantes desse clado compartilham características morfológicas que, apesar de homoplásticas no nível da tribo, poderiam se configurar como sinapomorfias de um gênero amplamente circunscrito, que incluísse todas essas espécies. Com base nesses resultados, será realizado um estudo de revisão de *Helia s.l.* (o nome genérico mais antigo disponível para nomear esse clado), incluindo as duas espécies de *Helia s.str.*, *Adenolisianthus* e as nove espécies de "*Chelonanthus* de flores verdes". Parte desse trabalho, i.e. dados parciais obtidos com a revisão das espécies de *Helia s.str.* e argumentação das questões relacionadas à tipificação do nome do gênero, é apresentada no capítulo 7 desta Tese.

Em suma, os resultados obtidos ao longo desse doutoramento trouxeram importantes contribuições para o conhecimento acerca da sistemática de Helieae. O estudo aprofundado de alguns clados esclareceu as relações entre diversas espécies, embasando circunscrições genéricas mais robustas, além de sugerir alguns padrões evolutivos e biogeográficos. Os resultados indicam ainda a necessidade do aumento da amostragem de

táxons com dados moleculares, especificamente 5S-NTS, o que certamente trará maior resolução nas relações filogenéticas da tribo. Particularmente, há necessidade de concentrar esforços nas espécies de *Macrocarpaea* e *Symbolanthus*, os dois gêneros com maior número de representantes, mas pouco amostrados até o momento. Finalmente, há a necessidade da continuidade da investigação da morfologia comparada, com a busca por novas fontes de evidência que possam trazer contribuições ao entendimento da evolução do grupo.

Espera-se que haja prosseguimento das pesquisas envolvendo a sistemática de Helieae, bem como de toda a família Gentianaceae. As perspectivas de estudo nessa área são excelentes, visto que, nos últimos anos, houve rápido avanço no entendimento das relações filogenéticas das Gentianaceae neotropicais. Prevê-se que, com a continuidade desses estudos e com a obtenção de novos dados moleculares e morfológicos, será possível evidenciar um quadro mais consistente das relações entre os gêneros e espécies de Helieae e, dessa forma, elucidar padrões evolutivos e biogeográficos desse importante grupo de plantas neotropicais.

Resumo

Helieae, uma das seis tribos de Gentianaceae, compreende 23 gêneros e mais de 200 espécies encontradas exclusivamente nos Neotrópicos. Trata-se de um grupo de plantas bastante diversificado e de complicada história taxonômica. Diversos gêneros de Helieae eram pouco conhecidos e as relações filogenéticas dentro da tribo careciam de resolução. Nesse contexto, a presente Tese, organizada em sete capítulos, teve como objetivo principal prover hipóteses sólidas quanto às relações filogenéticas da tribo, focando principalmente no estudo de quatro desses gêneros pouco conhecidos: *Calolisianthus* Gilg, *Helia* Mart., *Prepusa* Mart. e *Senaea* Taub., todos com distribuição centrada principalmente no Brasil. No primeiro capítulo são apresentadas a filogenia morfológica e as revisões taxonômicas de *Prepusa* e *Senaea*. Com base no estudo de coleções de herbários, cinco espécies de *Prepusa* e duas de *Senaea* foram reconhecidas. Todas são endêmicas a habitats montanos dos estados brasileiros da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. São apresentadas descrições morfológicas, chaves de identificação, ilustrações e mapas da distribuição de cada espécie. *Prepusa* e *Senaea* são morfológica, geográfica e filogeneticamente isolados entre as *Helieae* e a presença de flores 6-meras sustenta sua proximidade filogenética. Análises filogenéticas de 33 caracteres morfológicos usando parcimônia e métodos Bayesianos apresentaram um quadro consistente das relações de *Prepusa* e *Senaea*; os gêneros são monofiléticos e irmãos entre si. No segundo capítulo desta Tese, são apresentadas análises filogenéticas de parcimônia incluindo 22 gêneros e 60 espécies de Helieae. Esse estudo baseou-se em dados de morfologia, palinologia e sementes (127 caracteres estruturais), bem como em seqüências de DNA (*matK*, *trnL* intron, ITS). As reconstruções filogenéticas baseadas em ITS e morfologia proveram maior resolução nas relações entre os gêneros da tribo. *Celiantha*, *Prepusa* e *Senaea* emergiram juntos como clado-irmão das demais Helieae, as quais se apresentaram subdivididas em dois grandes subclados: "*Macrocarpaea*" e "*Symbolanthus*". O primeiro subclado inclui *Macrocarpaea*, irmão de *Chorisepalum*, *Tachia* e *Zonanthus*. *Irlbachia* e *Nebliantha* emergiram como grupos-irmãos do subclado "*Symbolanthus*", o qual inclui *Aripuana*, *Calolisianthus*, *Chelonanthus*, *Helia*, *Lagenanthus*, *Lehmanniella*, *Purdieanthus*, *Rogersonanthus*, *Roraimaea*, *Sipapantha* e *Symbolanthus*. No nível genérico foi evidenciado que *Chelonanthus* e *Irlbachia* são polifiléticos. Discute-se a evolução de alguns atributos morfológicos, sendo que novos caracteres polínicos e de sementes são avaliados pela primeira vez em uma análise filogenética combinada. No terceiro capítulo, as relações filogenéticas de Helieae foram investigadas com base em novos dados moleculares e maior amostragem de alguns clados. Seqüências de DNA de duas regiões nucleares (ITS e 5S-

NTS) e dados morfológicos foram analisados separadamente e em conjunto por meio de inferências de parcimônia e Bayesiana. Foram incluídos 86 espécimes representantes de 17 gêneros e 51 espécies de Helieae. Desse total, 47 espécimes possuíam seqüências das duas regiões e oito possuíam apenas dados morfológicos. O conjunto de dados completo gerou topologias largamente congruentes com aquelas obtidas com a análise de dois subconjuntos, um sem "dados ausentes" e outro incluindo táxons sem dados para uma das partições moleculares. A inclusão de maior número de táxons e de um novo conjunto de dados gerou um resultado consistente quanto ao posicionamento relativo de alguns clados, permitindo a definição de novas circunscrições genéricas para *Calolisianthus*, *Chelonanthus*, *Helia* e, em menor grau, para *Symbolanthus*. O gênero *Calolisianthus* constituía-se de 6–10 espécies, mas como resultado desses estudos filogenéticos moleculares e morfológicos, no quarto capítulo desta Tese uma nova circunscrição é apresentada e a atual lectotipificação questionada com base em conflito com o protólogo. O gênero recircunscrito, revisado no quinto capítulo, contém 4 espécies (uma delas nova para a ciência) endêmicas dos campos rupestres e cerrados do Brasil. O gênero é caracterizado pelo hábito herbáceo a subarborescente, pelas flores de cor rosa, vermelha, roxo-azulada ou lilás e por tétrades polínicas com exina reticulada, apresentando ilhas de retículo mais espessado. São fornecidas chave de identificação, descrições morfológicas, ilustrações, mapas de distribuição e comentários sobre o *status* de conservação de cada espécie. Também como resultado dos estudos filogenéticos desta Tese, duas espécies que pertenciam ao gênero *Calolisianthus* são transferidas para *Chelonanthus*. No sexto capítulo, são apresentadas descrições morfológicas, ilustrações e mapas de distribuição geográfica dessas espécies. Por fim, propõe-se que *Adenolisianthus* e os "*Chelonanthus* de flores verdes", os quais não são proximamente relacionados à espécie tipo do gênero, sejam incluídos em um gênero *Helia* mais amplamente circunscrito. No último capítulo, a lectotipificação de *Helia* é questionada com base na dificuldade de reconhecimento da identidade do atual lectótipo. Propõe-se que esse lectótipo seja rejeitado e substituído pela designação de um novo. *Helia sensu stricto* compreende 2 espécies que ocorrem em brejos e campos úmidos do Brasil e Paraguai. Caracteriza-se pelo hábito herbáceo e pelas corolas salverformes de coloração amarelo-esverdeada, creme ou alva. São apresentadas suas descrições morfológicas, chave de identificação e mapas de distribuição.

Abstract

Helieae, one of the six Gentianaceae tribes, comprises about 23 genera and over 200 species found exclusively in the Neotropics. It is a highly diverse assemblage of plants, which have traditionally been problematic regarding generic circumscriptions. Several Helieae genera were understudied and phylogenetic relationships within the tribe were unclear. On these grounds, the present seven-chapter Thesis aimed to provide solid hypothesis on the phylogenetic relationships of the tribe, focusing primarily on the study of four of these poorly known genera, specifically, *Calolisianthus* Gilg, *Helia* Mart., *Prepusa* Mart. and *Senaea* Taub., which occur mainly in Brazil. In the first chapter, a morphology-based phylogeny and taxonomic revision of *Prepusa* and *Senaea* are presented. Based on studies of herbarium collections, five species of *Prepusa* and two species of *Senaea* are recognized. All are endemic to montane habitats in the Brazilian states of Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais and Rio de Janeiro. Morphological descriptions, identification keys, illustrations and distribution maps for each species are provided. *Prepusa* and *Senaea* are morphologically, geographically, and phylogenetically isolated within *Helieae*, and their close relationship is supported by 6-merous flowers. Phylogenetic analyses of 33 morphological characters using both parsimony and Bayesian methods provide a consistent picture of the relationships of *Prepusa* and *Senaea*. The two genera are monophyletic and sister to one another. Parsimony-based phylogenetic analyses including 22 genera and 60 species of the tribe Helieae are presented in the second chapter. This study is based on data from morphology, palynology, and seed micromorphology (127 structural characters), and DNA sequences (*matK*, *trnL* intron, ITS). Phylogenetic reconstructions based on ITS and morphology provided the greatest resolution. *Celiantha*, *Prepusa* and *Senaea* together appear as the sister clade to the rest of Helieae. The remainder of Helieae is largely divided into two large subclades, the "*Macrocarpaea*" subclade and the "*Symbolanthus*" subclade. The first subclade includes *Macrocarpaea*, sister to *Chorisepalum*, *Tachia*, and *Zonanthus*. *Irlbachia* and *Neblinantha* are placed as sisters to the "*Symbolanthus*" subclade, which includes *Aripuana*, *Calolisianthus*, *Chelonanthus*, *Helia*, *Lagenanthus*, *Lehmanniella*, *Purdieanthus*, *Rogersonanthus*, *Roraimaea*, *Sipapoantha*, and *Symbolanthus*. Generic-level polyphyly is detected in *Chelonanthus* and *Irlbachia*. Evolution of morphological characters is discussed, and new pollen and seed characters are evaluated for the first time in a combined morphological-molecular phylogenetic analysis. In the third chapter, phylogenetic relationships in Helieae were studied based on new data and larger sampling in particular clades. DNA sequences from two nuclear regions (ITS and 5S-NTS) and morphological data were analyzed separately and in combination using parsimony and Bayesian inference. A

total of 86 specimens representing 17 and 51 Helieae genera and species, respectively, were included in the phylogenetic analyses; 47 specimens are sequenced for both regions, and eight have only morphological data. The complete data set produced topologies largely congruent with the ones obtained from two subsets, one without missing data, and another including taxa without data for one molecular partition. The use of new information led to a consistent result in the relative position of some clades and allowed defining new generic circumscriptions for *Calolisianthus*, *Chelonanthus*, *Helia*, and, to a lesser extent, *Symbolanthus*. The genus *Calolisianthus* formerly encompassed 6–10 species. As a result of these molecular and morphological phylogenetic studies, in the fourth chapter a new circumscription is presented and the existing lectotypification of *Calolisianthus* is questioned. It is proposed that this lectotype is rejected and superseded by the designation of a new lectotype, based chiefly on the conflict with the protologue. The genus *Calolisianthus* in its new circumscription, revised in the fifth chapter, comprises 4 species (one new to science) endemic to *campos rupestres* and *cerrados* in Brazil. The genus is characterized by herbaceous to subshrubby habit, by pink, red, purple-blue or lilac flowers, and by shedding pollen in reticulate tetrads with islands of coarse reticulum. Taxonomic key, morphological descriptions, illustrations, distribution maps, and comments about conservation status are provided. Moreover, two former *Calolisianthus* species are transferred to *Chelonanthus*. Morphological descriptions, illustrations and geographic distribution maps of these species are presented in the sixth chapter. Finally, it is proposed that *Adenolisianthus* and the "green-flowered *Chelonanthus*", which are not closely related to the type species, be included in a largely circumscribed *Helia*. In the final chapter, the existing lectotypification of *Helia* is questioned based on the difficulties in recognizing the material identity. It is proposed that this lectotype is rejected and superseded by the designation of a new lectotype. *Helia sensu stricto* comprises 2 species that occur in swamps and wet fields in Brazil and Paraguay. They are characterized by their herbaceous habit and greenish-yellow, cream or white, salverform corollas. Morphological descriptions, identification keys, illustrations, and distribution maps are provided for both of them.

— ANEXO 1 —

MORPHOLOGY-BASED PHYLOGENY AND REVISION OF *PREPUSA* AND *SENAEA*
(GENTIANACEAE: HELIEAE) — RARE ENDEMIC FROM EASTERN BRAZIL

CALIÓ MF, PIRANI JR & STRUWE L

KEW BULLETIN 63:169-191 (2008)

Morphology-based phylogeny and revision of *Prepusa* and *Senaea* (*Gentianaceae: Helieae*) — rare endemics from eastern Brazil

Maria Fernanda Calió¹, José Rubens Pirani¹ & Lena Struwe²

Summary. A morphology-based phylogeny and taxonomic revision of *Prepusa* Mart. and *Senaea* Taub. are presented. Based on studies of herbarium collections, five species of *Prepusa* and two species of *Senaea* are recognised. All are endemic to montane habitats in the Brazilian states of Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais and Rio de Janeiro. Morphological descriptions, identification keys, illustrations and distribution maps for each species are provided. *Prepusa* and *Senaea* are morphologically, geographically, and phylogenetically isolated within *Helieae*, and their close relationship is supported by 6-merous flowers. Phylogenetic analyses of 33 morphological characters using both parsimony and Bayesian methods provide a consistent picture of the relationships of *Prepusa* and *Senaea*. The two genera are monophyletic and sister to one another. There is some support for the relationships within *Prepusa*.

Resumo. São apresentadas a filogenia morfológica e as revisões taxonômicas de *Prepusa* Mart. e *Senaea* Taub. Baseado no estudo de coleções de herbários, cinco espécies de *Prepusa* e duas de *Senaea* são reconhecidas. Todas são endêmicas a habitats montanos dos estados brasileiros da Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais e Rio de Janeiro. São apresentadas descrições morfológicas, chaves de identificação, ilustrações e mapas da distribuição de cada espécie. *Prepusa* e *Senaea* são morfológica, geográfica e filogeneticamente isolados entre as *Helieae* e a presença de flores 6-meras sustenta sua proximidade filogenética. Análises filogenéticas de 33 caracteres morfológicos usando parcimônia e métodos Bayesianos apresentam um quadro consistente das relações de *Prepusa* e *Senaea*. Os gêneros são monofiléticos e irmãos entre si. Há sustentação para as relações entre as espécies de *Prepusa*.

Key Words. distribution, Neotropics, Phylogeny, *Prepusa*, revision, *Senaea*, taxonomy.

Introduction

Prepusa Mart. and *Senaea* Taub. are members of *Gentianaceae*. They are rare herbs, shrubs or small trees restricted to montane habitats in the states of Bahia, Espírito Santo, Minas Gerais and Rio de Janeiro. *Prepusa* was described by Martius (1827). Although sometimes considered to be derived from the Latin word “praeputium” (for example, Barroso 1986), the protologue indicates that the name comes from the Greek “πρεπουσα” meaning conspicuous, a reference to the remarkable overall appearance of the plants. The showiness of these plants is particularly striking when they are in flower; they are characterised by large, inflated calyces that are at least half the length of the corolla. *Prepusa montana* was the first species described (Martius 1827), and four species were added later by other researchers: *P. connata* Gardner (1839), *P. hookeriana* Gardner (1842), *P. alata*

Porto & Brade (1935), and *P. viridiflora* Brade (1949). *Senaea* was established by Taubert (1893) and the protologue indicates the genus was named for a Brazilian botanist referred to only as “Sena”. This genus has traditionally contained two species; *S. coerulea*, described by Taubert (1893) and *S. janeirensis*, described later by Brade (1932). Although *Prepusa* and *Senaea* share a few morphological features, these two genera are clearly distinguished by calyx size, *Senaea* having much smaller calyces. Apart from the original descriptions, these genera have only been treated in a few 19th century monographs (e.g., Grisebach 1839, 1845; Progel 1865; Gilg 1895) and in two recent local floras (Harley & Simmons 1986; Cordeiro 1987).

A close relationship between *Prepusa* and *Senaea* has been suggested based on several shared morphological features; specifically, both have 6-merous flowers, membranaceous calyces, and a distinctive pollen type

Accepted for publication April 2008.

¹ Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Rua do matão, 277-CEP: 05508-090, São Paulo, São Paulo, Brazil, e-mail: mfernanda_calio@yahoo.com.br.

² Department of Ecology, Evolution and Natural Resources, Rutgers University, 237 Foran Hall, 59 Dudley Road, New Brunswick, NJ 08901, USA.

(Nilsson 2002; Struwe *et al.* 2002). They have also been tentatively placed in the tribe *Helieae* based on morphological characteristics, including a broadly bilamellate stigma and pollen shed as tetrads (Nilsson 2002; Struwe *et al.* 2002). However, their position has been considered uncertain because the characteristic floral features of these two genera are very different from those of most *Helieae*. The floral characteristics that link *Prepusa* and *Senaea* do not occur in *Helieae*; furthermore, the characteristic calycine dorsal glandular areas and thickened calyx keels found in many *Helieae* are absent from both *Prepusa* and *Senaea*. Recent phylogenetic analyses of molecular and morphological data have suggested a direct link between *Prepusa* and *Senaea*, and have also supported their relationship with *Helieae* (Struwe *et al.* submitted). However, these analyses have included either *P. montana* alone or this species along with both *Senaea* species. None of the herbaceous species of *Prepusa* were considered in these analyses and so the relationships of these to the woody taxa and to the remainder of the tribe are uncertain.

To improve our understanding of these two rare and endangered genera we performed a detailed morphological study of all seven species, as well as other members of *Helieae*. Based on these data, we performed phylogenetic analyses to test the monophyly of the genera and the relationships within and between them. We also produced a taxonomic revision of both genera providing field keys, illustrations, morphological descriptions, and geographic distribution maps. It is our hope that this new information will help efforts to conserve these rare plants and will serve as a basis for future studies on the tribe.

Material and Methods

Detailed morphological studies were based on herbarium material from AAU, ALCB, BHCB, BM*, BR*, C, CEN, CEPEC, CHR*, CTES, ESA*, G*, HRB, HUEFS, IAN*, INPA*, K*, LIL, M, MBM*, MBML, MO, NY*, P, R*, RB*, S, SP*, SPF*, UB, UEC*, UPCB* and US* (* denotes herbaria visited by the authors). Only mature or fully developed structures were examined. Flowers and fruits were rehydrated in boiling water. All material was examined using a SZ Olympus dissecting microscope. Measurements were made using either a microscope interocular scale or calipers. Morphological descriptions follow Radford *et al.* (1974) and Stearn (1992) for two-dimensional shapes, and Weberling (1989) for inflorescences. Illustrations are based on both dried and rehydrated material. Preliminary conservation assessments follow IUCN (2001) guidelines.

For the phylogenetic analysis, we assembled a data set that included all species of *Prepusa* and *Senaea*. To ensure a proper rooting within the ingroup, 11 species from the tribe *Helieae* (i.e., *Aripuana cullmaniorum*,

Calolisianthus pedunculatus, *Celiantha bella*, *Chelonanthus viridiflorus*, *Chorisepalum carnosum*, *Helia oblongifolia*, *Iribachia nemorosa*, *Macrocarpaea rubra*, *Symbolanthus calygonus*, *Tachia grandiflora*, and *Tetrapollinia caerulescens*) and *Curtia verticillaris*, from the most basally placed tribe *Saccifolieae*, were included as outgroups. Based on our detailed morphological investigations, we identified 33 characters, shown in Appendix A with character delimitation, character states and commentaries. With the exception of pollen aggregation (character 32), all characters were scored based on direct examination of herbarium sheets. Pollen data were taken from Nilsson (2002). Characters and character states were designed for resolving relationships among *Prepusa* and *Senaea* species.

Phylogenetic analyses were performed using both parsimony and Bayesian approaches. For the parsimony analysis, a branch and bound search was performed using PAUP* version 4.0b10 (Swofford 2003). All characters were treated as unordered and equally weighted; multistate characters were treated as uncertain. Tree lengths, consensus trees, consistency index (CI) and retention index (RI) were calculated using PAUP. Bootstrap values were calculated with 1000 replicates. Decay indices were calculated using PAUP* and MacClade version 4.08 (Maddison & Maddison 2005).

The Bayesian analysis used the standard discrete model as implemented in MrBayes 3.1 (Huelsenbeck & Ronquist 2001; Ronquist & Huelsenbeck 2003). Searches used default settings for heating scheme (i.e., three “heated” chains and one “cold” chain), as well as for the priors on rate matrix (0 – 100), branch lengths (0 – 10), and gamma shape parameter (0 – 10). Simultaneous, independent pairs of searches were initiated from random start trees and run for five million generations, sampling from the posterior distribution of trees every 100 generations (for a total of 50,000 samples). Burnin was determined by plotting likelihood scores versus generation number and inspection of PSRF values for all model parameters. Posterior probabilities were calculated using the post-burnin sample of trees.

Results & Discussion

Phylogenetic Analyses

It was not possible to score all characters for all taxa; in one case the character was inapplicable. Specifically, character 13 (i.e., bracteoles subtending terminal flower) could not be scored for *Tachia grandiflora* because in this species the flowers are axillary. In addition, 2.6% of the cells were coded as missing because it was not possible to determine the character states based on the available material.

Parsimony analysis resulted in 37 most parsimonious (MP) trees, 91 steps long (CI = 0.42, RI = 0.64). In

all trees, the same set of relationships is recovered for *Prepusa* and *Senaea*; furthermore, the remaining representatives of *Helieae* form a clade in all trees. Differences between MP trees are restricted to relationships within this core *Helieae* clade (Fig. 1). In parsimony analyses, *Prepusa* and *Senaea* are sister to one another, although this relationship receives only limited bootstrap support. The two species of *Senaea* are also sister; this relationship is more strongly supported. *Prepusa* is recovered as monophyletic in all MP trees, but bootstrap support is less than 50%. Within this clade, *P. montana* branches first, followed by *P. viridiflora*; *P. alata* is sister to the pairing of *P. connata* and

P. hookeriana. These relationships receive moderate to strong bootstrap support. Bremer support values are consistent with those from bootstrapping. Specifically, relationships that are poorly supported by bootstrapping also receive low decay indices.

Inspection of likelihood plots and PSRF values for all model parameters indicated that independent searches had reached stationarity and converged within 500 generations; the initial 500 generations were discarded as burnin. The 50% majority-rule tree for post-burnin topologies was highly similar to that recovered using parsimony. Specifically, *Prepusa* and *Senaea* are sister to one another, and the same

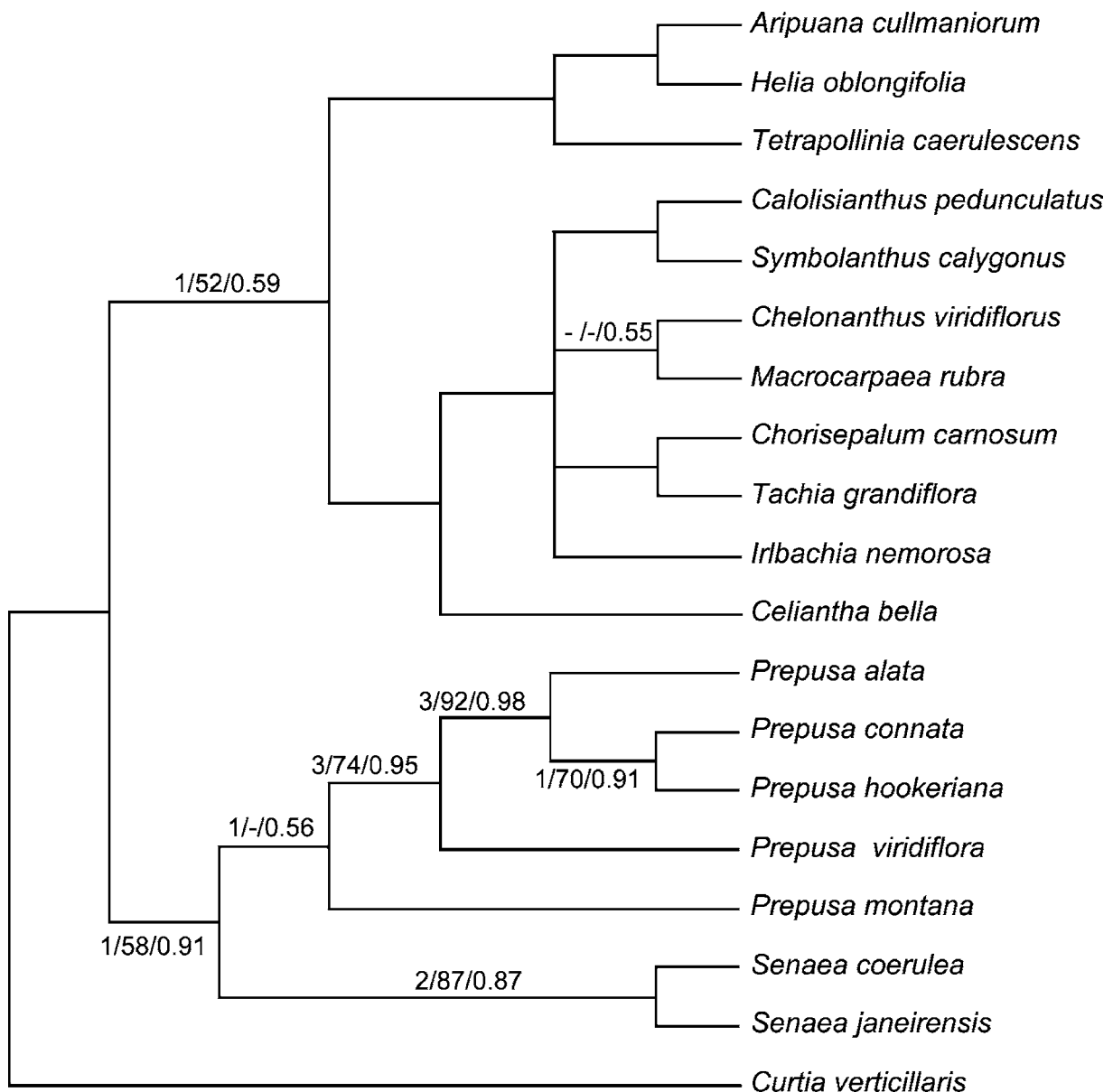


Fig. 1. Majority-rule consensus of 37 most parsimonious trees. Support for nodes is given by the decay index, parsimony bootstrap, and Bayesian posterior probabilities (in that order). A dash indicates that the corresponding node support value was either 0 for the decay index or was less than 50% for the parsimony bootstrapping or posterior probability.

relationships within *Prepusa* are recovered. Bayesian support values are generally consistent with those from the parsimony bootstrap analysis (see Fig. 1).

Additional analyses that included only a single representative of *Helieae* as an outgroup (*Curtia verticillaris* was not used) provide increased support for the monophyly of each of the genera, as well as for relationships within *Prepusa*. For example, when using *Aripuana cullmaniorum* and *Symbolanthus calygonus* as outgroups, bootstrap support for all nodes is above 80%. A possible explanation is that in the broader context of the tribe, character conflict leads to reduced support values. For example, *P. montana* shares a woody habit with both *Senaea* species, as well as with *Aripuana cullmaniorum*, *Chorisepalum carnosum*, and *Tachia grandiflora*; prominent decurrent ridges on stem are present not only in *Senaea* but also in several other taxa sampled for this analysis. Indeed, it seems likely that homoplasy is a general problem for morphology-based phylogenetic analysis of *Gentianaceae* since the diversity of the group makes it difficult to identify features that are unique to specific taxa (e.g. Mészáros *et al.* 2002).

Our phylogenetic analyses are clearly consistent with the monophyly of *Prepusa* and *Senaea*, and with a direct link between them (Fig. 1). Inspection of the data matrix indicates that the sister group relationship between these taxa is based on the shared presence of membranaceous calyces (character 17), 6-merous corollas (ch. 23), and cylindrical styles (ch. 33). The first two of these characters have commonly been used to distinguish these genera from other *Gentianaceae*. In contrast, *Helieae* generally have fleshy, sometimes leathery, calyces with dorsally thickened lobes that often have dorsal glandular areas; they also differ in that they have 5-merous corollas and flattened styles. Inspection of the matrix also indicates that monophyly of *Prepusa* is supported by only one character; specifically, winged calyces (ch. 21). Within *Prepusa*, the clade containing *P. viridiflora*, *P. alata*, *P. connata* and *P. hookeriana* is supported by several characters. These include leaves arranged in a basal rosette (ch. 3), connate leaf bases (ch. 8), non-prominent leaf midribs on abaxial surface (ch. 10), and connate bract bases (ch. 12). Within this subclade, the group formed by *P. alata*, *P. connata*, and *P. hookeriana* is supported by the red- to magenta-coloured leaf margins and apices (ch. 6), the presence of papillae on the inner side of calyces (ch. 19), and the reddish calyces (ch. 15). Finally, the link between *P. connata* and *P. hookeriana* is supported by urceolate calyces (ch. 16). The monophyly of *Senaea* receives moderate support. This link is supported by two characters; papillate corollas (ch. 26) and stamens exerted beyond the corolla (ch. 30).

It is important to note that while these characters appear to be useful for resolving phylogenetic rela-

tionships within *Prepusa* and *Senaea*, at least some of them are homoplastic when considered across *Helieae* as a whole. Given the small scope of this analysis and the observation that *Prepusa* and *Senaea* share character states with other *Helieae*, it should be clear that detailed discussion of morphological evolution within the tribe is simply not possible. However, it should be said that given the morphological diversity of *Helieae* it seems likely that the shared characters represent independent evolutions.

Biogeography and Conservation

Prepusa and *Senaea* occur in the *campo de altitude* and *campo rupestre* areas of eastern Brazil. These vegetation types are characterised by a mosaic distribution, often forming vegetation islands associated with rocky outcrops and sandy soils (Giulietti & Pirani 1988; Safford 1999). The individual islands are isolated from one another by areas of lower altitude that are both climatically and edaphically very different. *Prepusa alata*, *P. connata*, *P. hookeriana*, *P. viridiflora* and *S. janeirensis* occur in the *campos de altitude*; this vegetation type is associated with montane areas close to the Atlantic coast and the surrounding vegetation is Atlantic forest. In contrast, *P. montana* and *S. coerulea* occur in *campo rupestre*. This vegetation type occurs in more inland areas and the individual patches are isolated from one another by the distinctive *cerrado* vegetation. Similar patterns of disjunct distribution among *campos rupestres* and *campos de altitude* have been reported for other plant groups in eastern Brazil. For example, *Bradea* Standl. (*Rubiaceae*), *Hindsia* Benth. (*Rubiaceae*), *Hockinia* Gardner (*Gentianaceae*), *Schlumbergera* Lem. (*Cactaceae*), and *Wunderlichia* Riedel *ex* Benth & Hook. f. (*Asteraceae*) have species that occur in both the *campos rupestres* and *campos de altitude*. Giulietti & Pirani (1988), Safford (1999), and Safford & Martinelli (2000) provide excellent discussions of plant distribution patterns in the *campos rupestres* and *campos de altitude*.

The patchwork distribution of *campos de altitude* and *campos rupestres* has been suggested as an explanation for their high levels of endemism and species richness (Giulietti & Pirani 1988; Safford 1999). If this is the case, it seems reasonable to suggest that geographic isolation may have played a role in the diversification of *Prepusa* and *Senaea*. Paleobotanical evidence suggests that open floristic assemblages were more widely distributed in the Tertiary (Miocene) and have become more restricted and fragmented in response to climatic changes, chiefly during the glaciation cycles of the Quaternary (Safford 1999). This scenario implies that current species distribution may have arisen as the result of vicariance followed by allopatric speciation. That is, the distributions of formerly

widespread taxa were fragmented, forming “vegetation refugia” (Veloso *et al.* 1991). Ancestral populations of *Prepusa* and *Senaea* in these refugia subsequently diverged in isolation, resulting in the contemporary species distributions. Additional analyses of biogeographic patterns using phylogeny, biogeographic methods, and GIS are planned for this group; we hope these will help us understand the historical context of diversification in these groups.

All *Prepusa* and *Senaea* species are local endemics and currently most are restricted to protected areas (Maps 1 and 2). The most widespread species, *P. montana*, occurs in Parque Nacional (P.N.) da Chapada Diamantina, Parque Estadual (P.E.) do Morro do Chapéu, and the Parque Municipal de Mucugê. This species is also known to occur outside these parks. Based on its relatively widespread distribution, *P. montana* is considered to be “vulnerable” based on the IUCN guidelines (IUCN 2001). *Prepusa viridiflora* and *P. hookeriana* each occur in two locations, and these species are considered “endangered.” Specifically, *P. viridiflora* is found in P.E. da Pedra Azul and P.E. do Forno Grande, while *P. hookeriana* occurs in P.N. do Itatiaia and P.N. da Serra dos Órgãos. The remaining

species are all placed in the “critically endangered” category. Three of these are known only from a single locality: P.E. do Desengano (*S. janeirensis* and *P. alata*) and P.N. da Serra dos Órgãos (*P. connata*). Although placed in the “critically endangered” category *S. coerulea* may well be extinct as it has not been found since 1982, despite researchers commonly visiting the localities where it was previously reported. Unfortunately, the localities for *S. coerulea* are unprotected.

Although these species’ occurrence within parks provides some level of protection, they are highly dependent on the maintenance of these protected areas since their actual distribution is much more restricted, and they usually occur on just a single mountain peak. In all cases, loss of habitat, mainly due to fire, local habitat disturbance by cattle and humans, as well as increasing pressure from nearby human settlements, is of great concern. Not only do these activities greatly reduce the chance of finding additional populations outside of protected areas, but these also threaten the parks themselves. Careful management of these areas and the populations themselves is needed in order to assure longer-term survival.

Taxonomic Treatment

Key to Genera

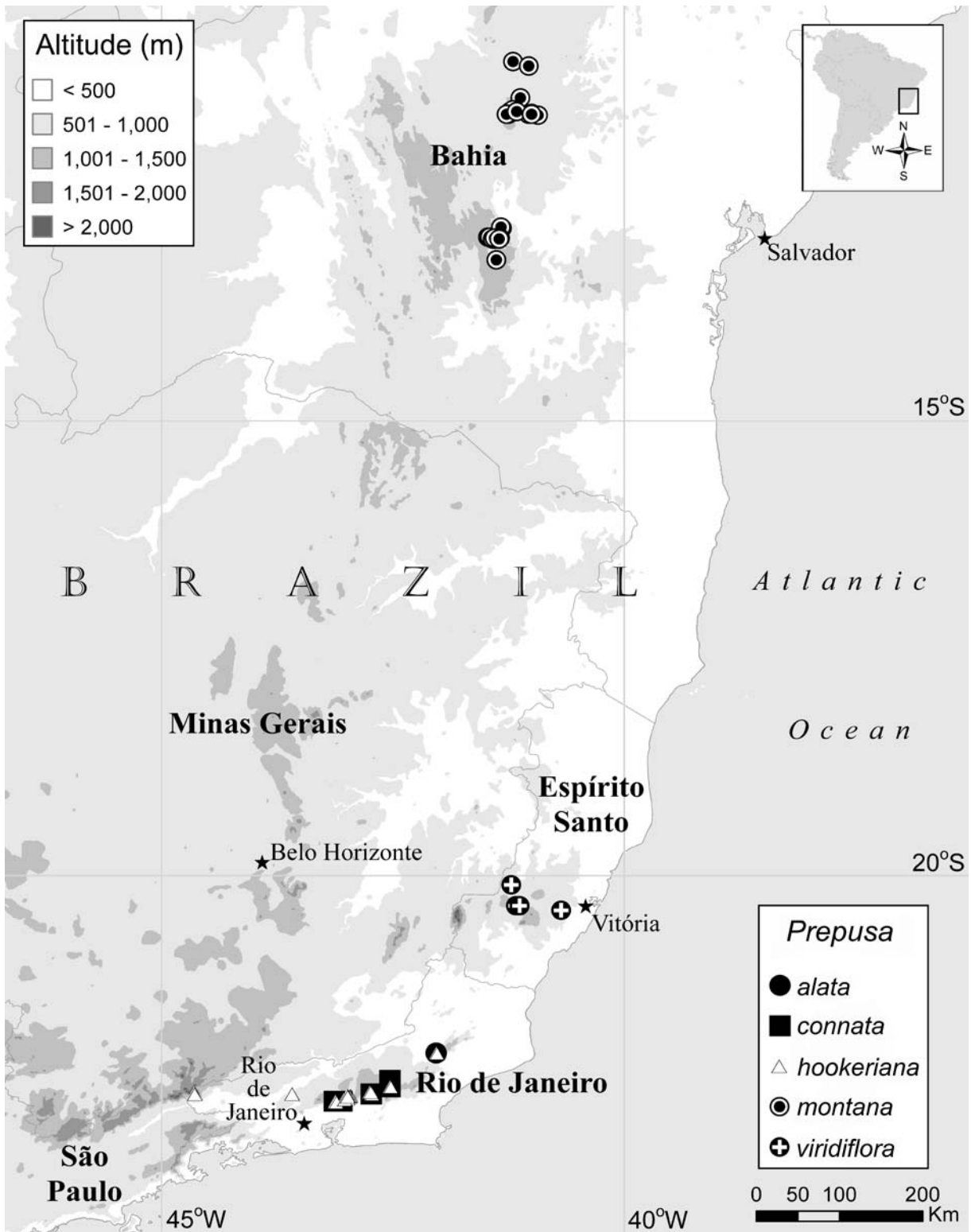
1. Calyx large (19 – 46 × 14 – 33 mm) and conspicuous, half as long or longer than the corolla; corolla lobes much shorter than corolla tube **Prepusa**
 1. Calyx small (6.9 – 12 × 5 – 8.5 mm) and not conspicuous, much shorter than the corolla; corolla lobes almost as long as corolla tube **Senaea**

Prepusa Mart. (1827: 120). Type species: *Prepusa montana* Mart.

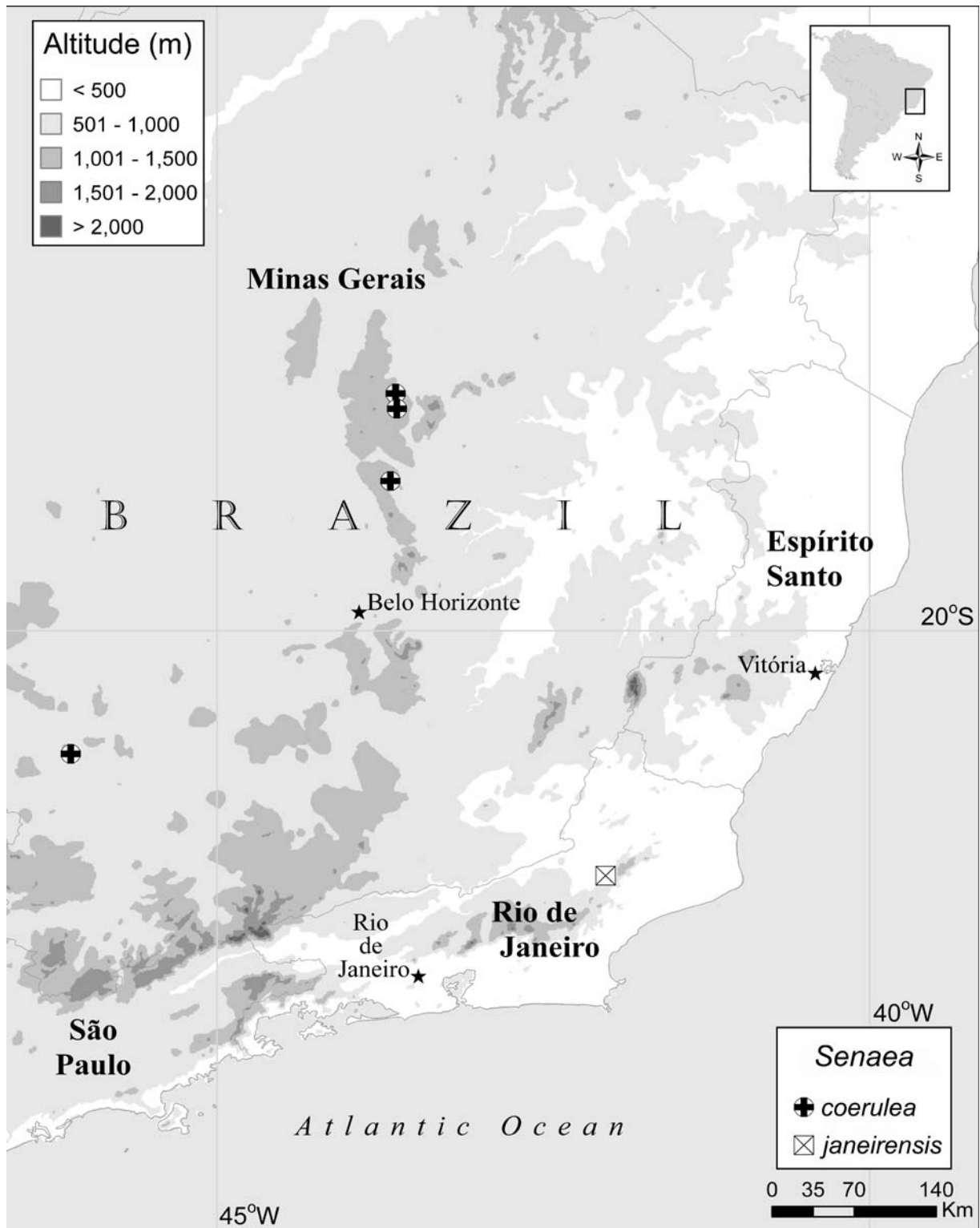
Herbs to shrubs or small trees, glabrous, unbranched or branched. *Stems* cylindrical from base to apex, with numerous, discontinuous, thin, vertical ridges (not extending from interstipular line to node directly below). *Leaves* clustered at base of stem, forming a basal rosette or clustered at branch apices, green to greenish-yellow, sessile, fleshy; margin entire, hyaline, reddish or green; venation acrodromous, primary and secondary veins conspicuous, tertiary veins inconspicuous. *Inflorescence* terminal, dichasium; bracts and bracteoles leaf-like, with entire, hyaline margins. *Flowers* actinomorphic, perfect, 6-merous, pedicellate. *Calyx* reddish, green or yellowish, campanulate or urceolate, inflated, marcescent; lobes equal; colleters present on inside of calyx. *Corolla* white, cream, yellow,

yellowish-green or brown, funnel-shaped or campanulate with a constriction at the level of stamen insertion and widening above, membranaceous or marcescent, not papillate; lobes aestivation contort. *Stamens* 6, unequal or equal in length, included, inserted in the lower third of the corolla tube; filaments filiform, very rarely twisted when dry; anthers ovoid to ellipsoid, sagittate at base, dorsifixed, with sterile appendix at apex, introrse. *Ovary* ellipsoid; style slender, not twisted when dry; stigma bilamellate; placentation parietal; ovules numerous. *Fruit* a capsule, unilocular, 2-valvate, many-seeded, with persistent calyx, corolla, and style.

Prepusa comprises five species restricted to the *campos rupestres* and *campos de altitude* of the eastern Brazilian states of Bahia, Espírito Santo and Rio de Janeiro (Map 1).



Map 1. Distribution of *Prepusa* species.



Key to the species of *Prepusa*

1. Stems woody, shrub or small tree; leaf apex obtuse and emarginate; corolla lobe margin entire, rarely slightly sinuate (Bahia) **4. *P. montana***
1. Stems not woody (herbaceous) or woody only at base (subshrub); leaf apex acuminate or acute; corolla lobe margin crenulate, very rarely entire (Rio de Janeiro and Espírito Santo):
 2. Calyx winged:
 3. Calyx reddish, winged from base to the apex of the calyx tube; calyx lobes transversely elliptic, widely elliptic or depressed ovate, with caudate to mucronate apex; corolla campanulate, longer than calyx (Rio de Janeiro) **1. *P. alata***
 3. Calyx greenish-brown, winged from base, but not reaching the apex of the calyx tube; calyx lobes triangular, with acute to acuminate apex; corolla funnel-shaped, shorter than to as long as calyx (Espírito Santo) **5. *P. viridiflora***
 2. Calyx not winged:
 4. Bracts 34 – 61 × 18 – 32 mm, connate to $\frac{2}{5}$ – $\frac{4}{5}$ of length, forming a bilabiate sheath; calyx lobe apex caudate; filaments twisted when dry **2. *P. connata***
 4. Bracts 19 – 27 × 5 – 9 mm, connate to only $\frac{1}{10}$ – $\frac{1}{5}$ of length; calyx lobe apiculate to mucronate; filaments not twisted when dry **3. *P. hookeriana***

1. *Prepusa alata* Porto & Brade (1935: 222). Type: Brazil, Rio de Janeiro, Santa Magdalena (sic), Pedra das Flores, 1400 m, Nov. 1933, *J. Santos Lima* 185 (holotype RB!; isotype RB!).

Herbs, woody at base, 20 – 80 cm tall, unbranched. *Stems* 2.5 – 4.0 mm in diam. below inflorescence, internodes 5 – 18 mm long at base of plant, 35 – 60 (– 116) mm long below inflorescence. *Leaves* elliptic to narrowly elliptic, oblanceolate to obovate, 22 – 86 × 11 – 26 mm, base connate less than $\frac{1}{10}$ of length, margin reddish and straight, apex acute to acuminate; 1 – 3 pairs of secondary veins. *Inflorescence* 90 – 205 mm long, 1 – 4 flowered; bracts elliptic to obovate, 29 – 33 × 13 – 20 mm, base connate to c. $\frac{1}{10}$ of length, apex acute; bracteoles 1 pair per flower, inserted either at the base or at c. $\frac{1}{5}$ of pedicel length (from base), narrowly elliptic, oblanceolate or narrowly oblong, 10 – 40 × 1.6 – 13.5 mm, base connate to $\frac{1}{10}$ – $\frac{2}{5}$ of length, apex acute or acuminate; pedicel 50 – 156 mm long, 0.7 – 3.0 mm in diam. *Calyx* reddish, campanulate, 20 – 30 × 14 – 17 mm at anthesis, papillate on the inner side, minutely papillate on the outer side only close to the apex, dorsally winged from base to apex, wings 1.5 – 4.5 mm wide; lobes elliptic to widely ovate, 2.7 – 4.5 × 5.1 – 6.0 mm, apex caudate or mucronate. *Corolla* white, cream, to pale yellow, campanulate, 36 – 43 mm long, 1.5 – 1.6 times longer than calyx; tube 25 – 31 mm long, 2.2 – 3.2 mm wide at base, 7.2 – 8.0 mm wide below filament insertion, 10 – 13 mm above filament insertion, 10 – 20 mm wide at mouth; lobes ovate, elliptic or obovate, 10 – 15 × 6.5 – 8.1 mm, margin crenulate (very rarely entire), apex apiculate. *Filaments* unequal in length, not twisted when dry, 21 – 30 mm long; anthers 4.1 – 5.0 mm long, attached to filament c. 2.1 mm from

anther base. *Ovary* 11 – 14 mm long; style 13 – 21 mm long; stigma lobes broadly elliptic, 2.0 – 2.5 mm long. *Fruit* not seen. Fig. 2.

DISTRIBUTION. Brazil, Rio de Janeiro. Occurring only on Pedra do Desengano (Parque Estadual do Desengano). Map 1.

SPECIMENS EXAMINED. Rio de Janeiro: Santa Maria Madalena, Parque Estadual do Desengano, Pedra do Desengano, 17 Sept. 1986, *Farney & Caruso* 1195 (CEPEC, MG, RB!) & 24 March 2002, *Gomes et al.* 153 (CHRB!, K, SPF!, SP!) & 5 Oct. 1988, *Martinelli et al.* 13140 (RB!) & March 1934, *Santos Lima & Brade* 14101 (RB!).

HABITAT. *Campo de altitude*, 1400 – 1800 m.

CONSERVATION STATUS. CR B1ab(i,ii)+2ab(i,ii). This species is categorised as Critically Endangered due to its small extent of occurrence, confined to only one mountain peak.

PHENOLOGY. Flowering specimens have been found in March, Sept. and Oct.

ETYMOLOGY. The species epithet '*alata*' was given because of the winged calyx.

2. *Prepusa connata* Gardner (1839: 225 – 226); Grisebach (1845: 81); Progel (1865: 243); Gilg (1895: 96). Type: Brazil, Rio de Janeiro, near the summits of Organ Mts, 1500 m, May 1837, *Gardner* 541 (holotype BM!; isotypes CGE!, G! (2 sheets), K!, NY! (2 sheets), P!, S!, US!).

Prepusa campanulata Grisebach (1845: 81) nom. nud.

Herbs, not woody at base, 28 – 69 cm tall, unbranched. *Stems* 2.5 – 6.8 mm in diam. below inflorescence, internodes 6 – 55 (– 105 – 110) mm long at base of plant, (8 –) 35 – 75 (– 105) mm long below

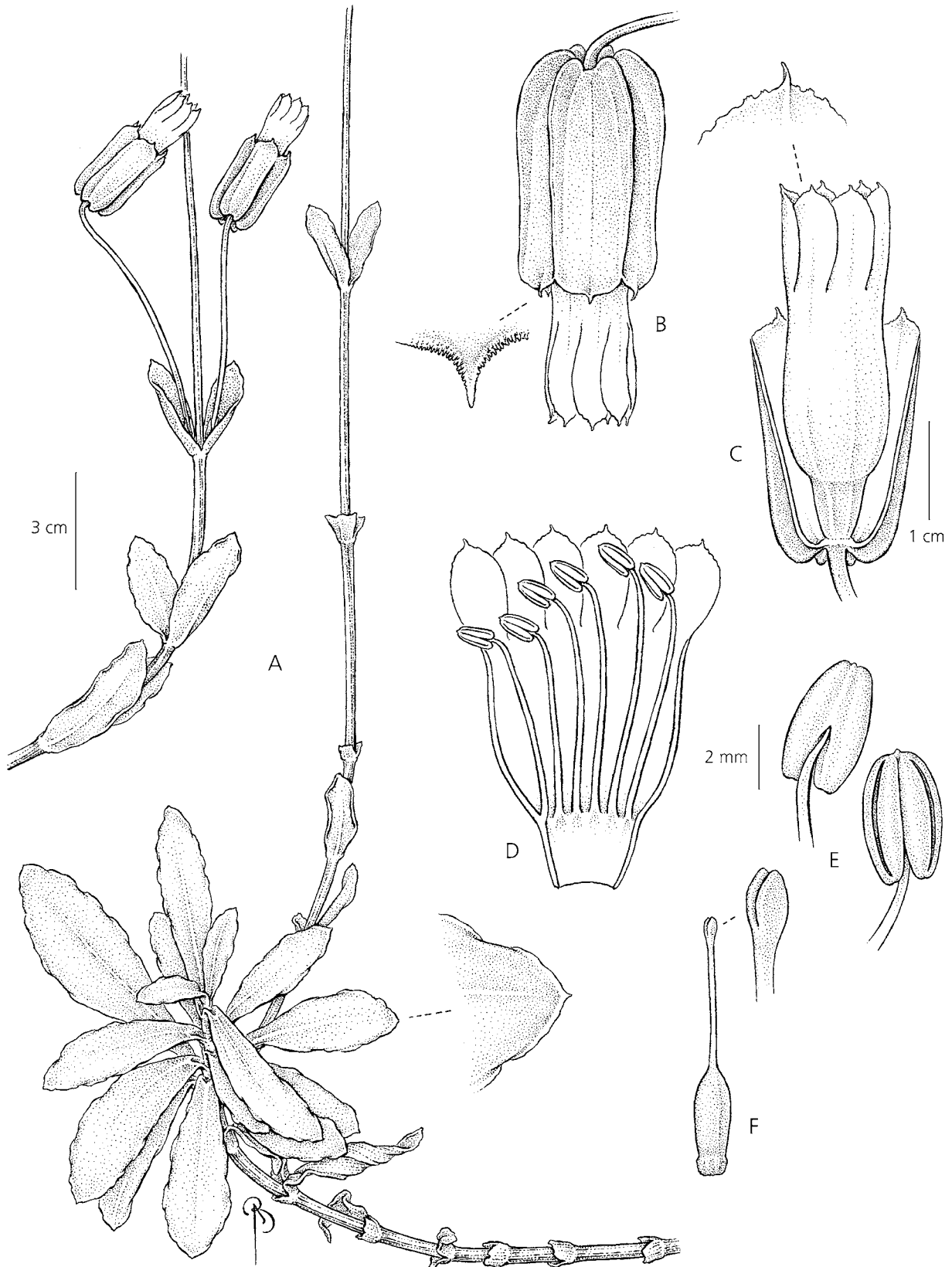


Fig. 2. *Prepusa alata*. A habit and leaf apex detail; B flower and calyx lobe apex detail; C corolla (calyx partly removed) and corolla lobe apex detail; D opened corolla; E anthers; F gynoecium and stigma detail. All from Gomes *et al.* 153. DRAWN BY BOBBI ANGELL.

inflorescence. *Leaves* elliptic to narrowly elliptic, oblanceolate to obovate or oblong, 34 – 120 × 16 – 33 mm, basal leaves base connate less than $\frac{1}{10}$ of length, apical leaves base connate $\frac{1}{5}$ – $\frac{3}{5}$ of length, margin green and straight, apex acute to acuminate and mucronate to apiculate; 2 (– 5) pairs of secondary veins. *Inflorescence* 65 – 230 mm long, 3 – 7-flowered; bracts elliptic to obovate, 34 – 61 × 18 – 32 mm, base connate to $\frac{2}{5}$ – $\frac{4}{5}$ of length, forming a bilabiate sheath, apex acute, acuminate or obtuse; bracteoles 1 pair per flower, inserted at the base of pedicel, lanceolate or oblanceolate, 9 – 24 × 1 – 5 mm, base connate to c. $\frac{1}{10}$ of length, apex acuminate; pedicel 51 – 150 mm long, 0.9 – 2.4 mm in diam. *Calyx* reddish, greenish-red, whitish-pink, or purple-red, urceolate, 20 – 29 × 15 – 24 mm at anthesis, papillate on the inner side, not papillate on the outer side, not dorsally winged; lobes widely depressed ovate, 0.8 – 1.8 × 4.8 – 7.2 mm, apex caudate. *Corolla* whitish-rose, white, cream or pale yellow tinged red, campanulate, 34 – 38 mm long, 1.3 – 1.9 times longer than calyx; tube 24 – 29 mm long, 2.8 – 3 mm wide at base, 5.8 – 7.0 mm wide below filament insertion, 10 – 12 mm wide above filament insertion, 10 – 12 mm wide at mouth; lobes elliptic, 9 – 12 × 5.1 – 6.9 mm, margin crenulate, apex caudate or mucronate. *Filaments* unequal in length, twisted when dry, 19 – 23 mm long; anthers c. 4.6 mm long, attached to filament c. 2 mm from anther base. *Ovary* 13 – 16 mm long; style c. 17 mm long; stigma lobes obovate, c. 2.6 mm long. *Fruit* not seen. Fig. 3.

DISTRIBUTION. Brazil, Rio de Janeiro. Occurring only on Serra dos Órgãos (Parque Nacional da Serra dos Órgãos). Map 1.

SPECIMENS EXAMINED. Rio de Janeiro: Serra dos Órgãos, Frade, 7 Aug. 1869, *Glaziou* 3813 (BR!, C!, P!, R!); Nova Friburgo, 13 June 1999, *Franzen* 42 (MBM!) & 13 May 1888, *Glaziou* 17238 (C!, IAN!, MO!, NY!) & 18 May 1891, *Glaziou* 18372 (BM!, BR!, C!, G!, K!, NY! (2 sheets), P!); Petrópolis, Morro do Cuca, 27 Jan. 1983, *Simonis & Martinelli* 20 (RB!) & Vale das Videiras, 21 April 1974, *Martinelli* 240 (BR, CEN!, CEPEC!, F, GUA!, K, LIL, MBM!, MO, MG, RB!) & 1 July 1975, *Martinelli* 602 (RB!) & 12 June 1977, *Martinelli* 2561 (RB!) & 10 Oct. 1979, *Martinelli & Santos* 6125 (RB!) & 25 Aug. 1983, *Martinelli et al.* 9335 (RB!) & 27 May 1995, *Ribeiro et al.* 2280 (GUA!) & between Araras and Vale das Videiras, Pico Pindoba, s. d., *Martinelli* 9889 (RB!) & 18 June 1985, *Martinelli et al.* 11148 (RB!); Teresópolis, Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Pico da Pedra da Cruz, 6 June 2004, *Pedernheiras* 16 (R!); Without locality, s.d., *Gardner* s.n. (R!).

HABITAT. *Campo de altitude*, 1500 – 1800 m.

CONSERVATION STATUS. CR B1ab(i,ii)+2ab(i,ii). This species is only found on the Organ Mountains, so its

area of occupancy is very limited, leading to a classification as Critically Endangered.

PHENOLOGY. Flowering specimens have been collected in Jan., April to Aug. and Oct.

ETYMOLOGY. *Prepusa connata* is named after its connate bracts.

NOTE. *Prepusa campanulata* is not a validly published name. In 1845, when Grisebach cited this name as a synonym of *P. connata*, he created a nomem nudum.

3. *Prepusa hookeriana* Gardner (1842: 3909); Grisebach (1845: 81); Progel (1865: 244); Gilg (1895: 96). Type: Brazil, Rio de Janeiro, Summit of Organs Mts. Locis apertis humidis, 2050 m, 18 April 1841, *Gardner* 5823 (holotype BM!; isotypes CGE!, G! (3 sheets), K!, NY! (2 sheets), P!, RB!).

Herbs, not woody at base, 31 – 53 cm tall, unbranched. *Stems* 1.5 – 4.9 mm in diam. below inflorescence, internodes 2 – 5 mm long at base of plant, (55 –) 105 – 183 mm long below inflorescence. *Leaves* elliptic to narrowly elliptic, oblanceolate or linear, 16 – 82 (– 150) × 4 – 13 mm, base attenuate, cuneate or connate less than $\frac{1}{10}$ of length, margin reddish and straight, apex acute to acuminate, some apiculate; 1 – 2 pairs of secondary veins. *Inflorescence* 65 – 145 mm long, 1 – 5-flowered; bracts obovate to oblanceolate, 19 – 27 × 5 – 9 mm, base connate $\frac{1}{10}$ – $\frac{2}{5}$ of length, apex acute to acuminate and mucronate to apiculate; bracteoles 1 pair per flower, inserted at the base or rarely at c. $\frac{3}{10}$ of the pedicel length (from base), oblanceolate or rarely lanceolate, 8 – 24 × 2.0 – 7.7 mm, base attenuate, apex acute and apiculate; pedicel 31 – 110 mm long, 0.4 – 2.0 mm in diam. *Calyx* reddish, pink or rose, urceolate, 19 – 33 × 14 – 25 mm at anthesis, papillate on the inner side, minutely papillate on the outer side close to the apex, not dorsally winged; lobes transversely elliptic to narrowly transversely elliptic, 0.7 – 3.0 × 3.7 – 5.8 mm, apex apiculate to mucronate. *Corolla* whitish-rose, white, cream, or pale yellow tinged red, campanulate, 26 – 32 mm long, c. 1.4 times longer than calyx; tube 18 – 23 mm long, 1.4 – 1.9 mm wide at base, 5.0 – 6.2 mm wide below filament insertion, 8 – 11 mm wide above filament insertion, 10 – 11 mm wide at mouth; lobes elliptic, obovate, widely obovate or widely ovate, 6 – 12 × 3.3 – 8.1 mm, margin crenulate, apex apiculate. *Filaments* unequal in length, not twisted when dry, 9 – 13 mm long; anthers 3.6 – 4.3 mm long, attached to filament c. 2 mm from anther base. *Ovary* c. 10 mm long; style c. 7 mm long; stigma lobes elliptic, c. 2.4 mm long. *Fruit* not seen. Fig. 4.

DISTRIBUTION. Brazil, Rio de Janeiro. Occurring only on Serra dos Órgãos (Parque Nacional da Serra dos Órgãos) and on the Serra da Mantiqueira (Parque Nacional do Itatiaia) Map 1.

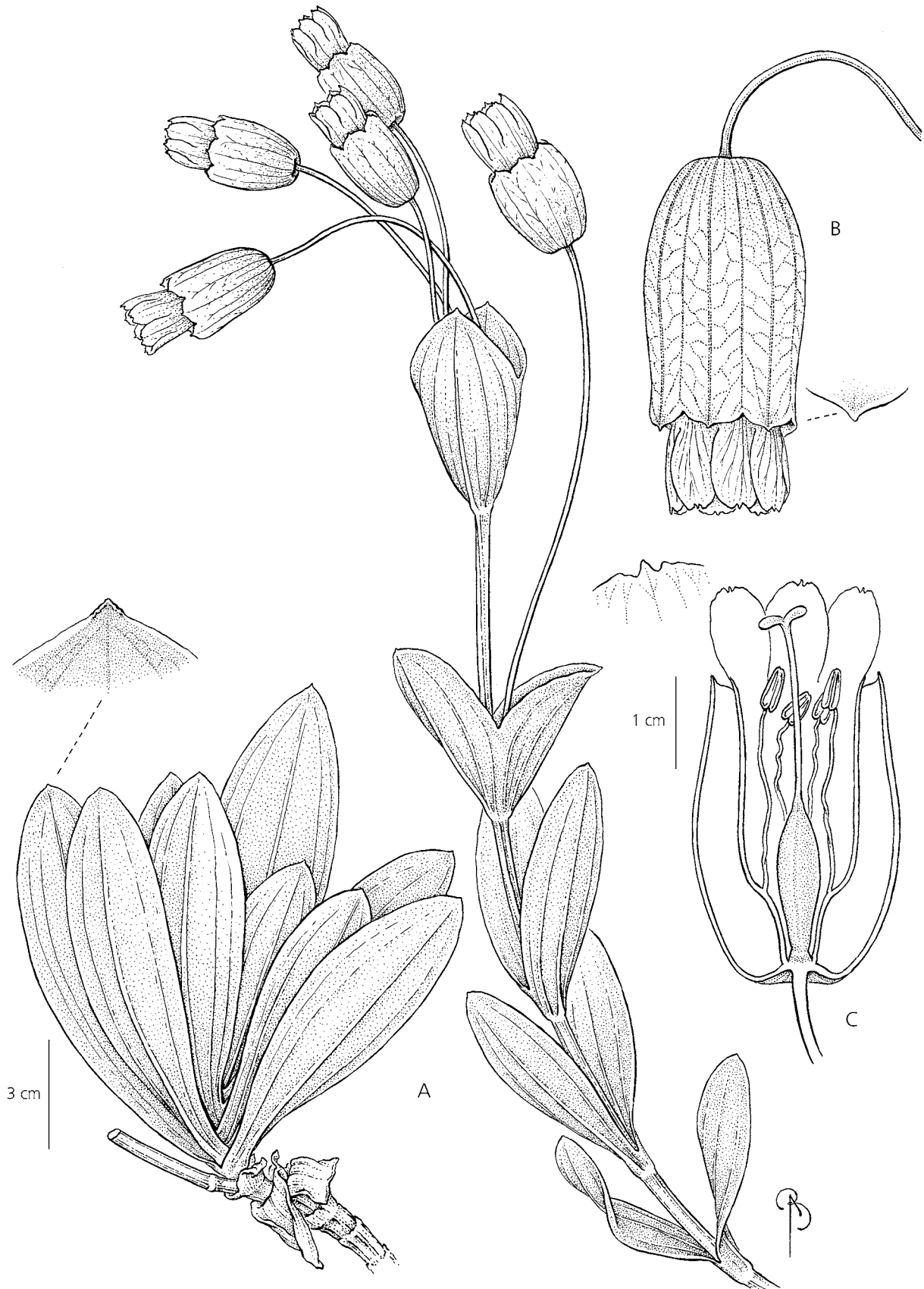


Fig. 3. *Prepusa connata*. A habit and leaf apex detail; B flower and adaxial surface of calyx lobe apex detail; C longitudinal section of flower and adaxial surface of corolla lobe detail. A from Gardner s.n.; B – C from Glaziou 18372. DRAWN BY BOBBI ANGELL.

SPECIMENS EXAMINED. Rio de Janeiro: Itatiaia, Parque Nacional do Itatiaia, near Abrigo Rebouças, 13 April 1979, *Shepherd & Kirschanzajt* 9958 (UEC!); Serra dos Órgãos, 27 Feb. 1933, *Brade* 12464 (R!) & July 1975, *Camerilo* B640 (K!) & 1964, *Duarte* s.n. (RB!) & 18 April 1841, *Gardner* s.n. (BM!) & 3 April 1870, *Glaziou* 4099 (C!) & 15 March 1888, *Glaziou* 16236 (R!) & 1887, *Moura* s.n. (R!) & s.d., *Saldanha* 7357 (RB!); Nova Friburgo, Caledônia, 15 May, *Cappeli* s.n. (RB!) & Aug. 1951, *Cappeli* s.n. (RB!); Petrópolis, Parque Nacional da Serra dos Órgãos, Morro Açu, 4 April 1972, *Bacia* 534 (R!) & 30 Sept. 1929, *Brade* 9502 (R!) & 29 March 1937, *Dionysio* s.n. (RB!) & 6 March 1910, *Lützelburg* s.n. (M!(2 sheets, NY!)) & 21 Feb. 1944, *Vianna* 116 (RB!) & trail to Morro Açu, 31 Aug. 1985, *Farney et al.* 795 (K, NY!, RB!); Teresópolis, Feb. 1941, *Ribeiro* s.n. (R!) & Jan. 1952, *Vidal* 182 (R!) & Feb. 1952, *Vidal* 330 (R!) & Parque Nacional da Serra dos Órgãos, 29 April 1962, *Santos et al.* 1221 (HB!, R!) & Campo das Antas, 2 May 1930, *Brade* s.n. (RB!) & 22 May 1948, *Carris* s.n. (GUA!, RB!) & 13 July 1956, *Castellanos* 21660 (LIL!) & 27 March 1883, *Gabinete de Botânica da Escola Politécnica* 7351 (R!) & 16 April 1972, *Kirkbride Jr. et al.* 1723 (C!, NY!, UB!, US!, R!) & 2 Feb. 1983, *Martinelli & Simonis* 9055 (RB!, US!) & Feb. 1942, *Santos & Fota Pessoa* s.n. (R!) & 1 Feb. 1983, *Simonis & Martinelli* 26 (NY!, RB!) & Pedra da Baleia, Feb. 1953, *Vidal* 6431 (R!) & Feb. 1953, *Vidal* 6447 (R!) & 10 May 1981, *Vilaça & Ribeiro* 127 (GUA!) & between Pedra da Baleia e Pedra do Dinossauro, 3 March 1981, *Carauta et al.* 3670 (GUA!) & Pedra do Sino, 8 Oct. 1929, *Brade* 9620 (R!) & 2 May 1931, *Brade* 10753 (BHCb!, R!) & 12 Jan. 1960, *Flaster* 64 (R!) & 17 March 2000, *Gajardo & Sazima* 3 (UEC!) & 16 June 1946, *Silva* s.n. (RB!) & 9 Dec. 1960, *Strang* 272 (GUA!) & Feb. 1952, *Vidal* 597 (R!) & July 1953, *Vidal* 6480 (R!) & trail to Pedra do Sino, 22°27'6"S 43°0'4"W, 12 March 2001, *Costa et al.* 508 (SP!, SPF!); Without locality, s.d., *Gardner* s.n. (K!) & s.d., *Gardner* s.n. (S!) & s.d. *Glaziou* 3814 (BR!), & March 1884, *Glaziou* 15242 (C!, G!, K!, P!, RB!) & May 1887, *Glaziou* 16363 (C!, K!, P!, RB!).

HABITAT. *Campos de altitude*, found only once growing on swampy ground (*Shepherd et al.* 9958); 850 – 2700 m.

CONSERVATION STATUS. EN B1ab(i,iii,iv)+2ab(i,iii,iv). There are only two known localities for this species, each from a different mountain chain. The localities are about 100 km apart and the species is here classified as Endangered.

PHENOLOGY. Flowering specimens have been found from Jan. to May and July to Oct.

ETYMOLOGY. *Prepusa hookeriana* was named in honour of W. J. Hooker (1785 – 1865), a famous British botanist.

VERNACULAR NAME. Cravina-do-campo (Portuguese).

4. *Prepusa montana* Mart. (1827: 121); Grisebach (1839: 206); Grisebach (1845: 81); Progel (1865:

243); Gilg (1895: 96). Type: Brazil, Bahia, Serra do Sincorá, 660 m, 1817 – 1820, *Martius* 2108 (holotype M).

Shrubs to small trees, 1 – 3 m tall, branched. *Stems* 4.5 – 7.3 mm in diam. below inflorescence, internodes 32 – 150 mm long below inflorescence. *Leaves* elliptic, oblanceolate or obovate, 33 – 140 × 13 – 64 mm, base attenuate, not connate, margin green and revolute, apex obtuse and emarginate; 1 – 2 pairs of secondary veins. *Inflorescence* 102 – 330 mm long, 2 – 18-flowered; bracts elliptic or obovate, 21 – 58 × 10 – 36 mm, base attenuate, apex obtuse; bracteoles 1 pair per flower, inserted at $\frac{2}{5}$ – $\frac{1}{2}$ of pedicel length (from base), oblanceolate, 8 – 17 × 1.7 – 6.0 mm, base attenuate, apex obtuse; pedicel 22 – 64 mm long, 1.3 – 2.0 mm in diam. *Calyx* greenish-yellow, yellowish-green, cream, to light green, campanulate, 22 – 33 × 24 – 33 mm at anthesis, not papillate, dorsally winged from base to apex, wings 1.5 – 4.5 mm wide; lobes transversely elliptic or depressed ovate, 6 – 9 × 8.9 – 13 mm, apex caudate. *Corolla* greenish-yellow, pale yellow, or cream, campanulate, 30 – 43 mm long, 1.3 – 1.6 times longer than calyx; tube 20 – 31 mm long, 2 – 6 mm wide at base, 6.5 – 11.0 mm wide below filament insertion, 13 – 22 mm above filament insertion, 13 – 24 mm wide at mouth; lobes widely elliptic or oblong, 8 – 19 × 6.4 – 11.0 mm, margin entire or very rarely slightly sinuate, apex caudate, mucronate or cuspidate. *Filaments* slightly unequal or equal in length, not twisted when dry, 13 – 29 mm long; anthers 5.5 – 7.2 mm long, attached to filament 1.9 – 3 mm from anther base. *Ovary* 13 – 20 mm long; style 8 – 20 mm long; stigma lobes widely elliptic, obovate or depressed ovate, 1.2 – 3.0 mm long. *Fruit* not seen. Fig. 5.

DISTRIBUTION. Brazil, Bahia. Occurring in the Chapada Diamantina in the Parque Nacional da Chapada Diamantina, Parque Estadual do Morro do Chapéu, Parque Municipal de Mucugê, and outside the boundaries of these parks. Map 1.

SPECIMENS EXAMINED. Bahia: Andaraí, Serra Andaraí–Capa Bode, road to Mucugê, 30 Oct. 1978, *Martinelli et al.* 5425 (RB!) & 27 Oct. 1978, *Martinelli et al.* 5507 (RB!); Igatu, s.d., *Gusmão* 305 (ALCB!, HRB!, SP!); Morro do Chapéu, 17 May 1975, *Barroso et al.* s.n. (SPF!) & 26 Sept. 1965, *Duarte & Pereira* 9208 (GUA!, RB!) & 11 Sept. 1956, *Pereira* 2020 (GUA!, RB!) & 26 Sept. 1965, *Pereira & Duarte* 10118 (HB!, M!) & 21 Sept. 1985, *Pinto* 116/85 (HRB!, UB!) & 27 July 1975, *Souza & Brito* s.n. (ALCB!) & 11°38'34"S 40°55'45"W, 26 Aug. 1980, *Orlandi* 268 (HRB!, HUEFS!) & 11°6'0"S 41°2'0"W, 3 Oct. 1991, *Freire-Fiervo et al.* 1749 (SPF!) & c. 7 km S of Morro do Chapéu, 16 Feb. 1971, *Irwin et al.* 32295A (MO!, NY!, US!) & 16 Feb. 1971, *Irwin et al.* 32327 (MO!, NY!) & Ferro Doido river, 14 Oct. 1981, *Hatschbach* 44263 (C!, MO!) & 19.5 km SE of Morro do Chapéu

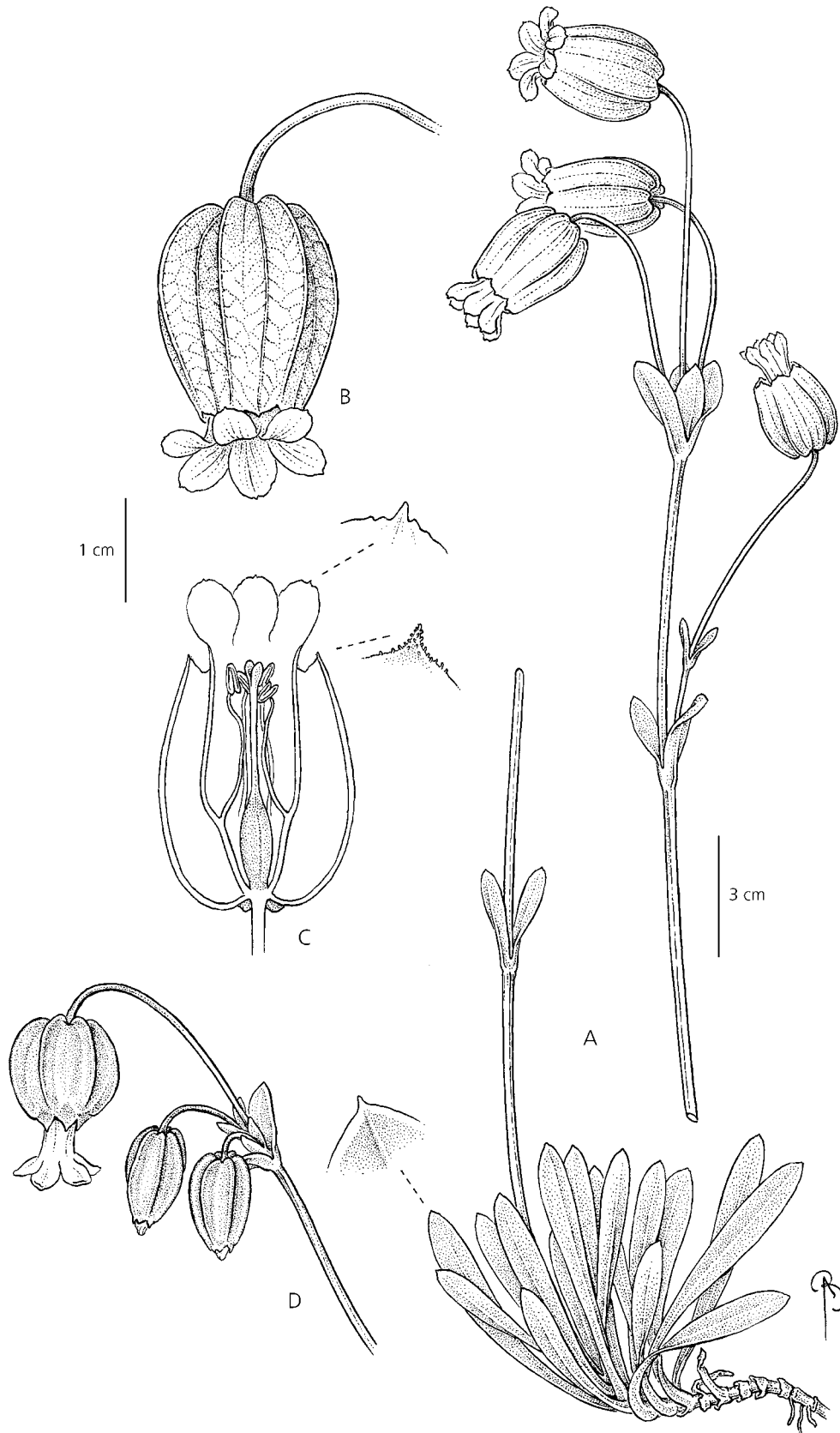


Fig. 4. *Prepusa hookeriana*. A habit and leaf apex detail; B flower; C longitudinal section of flower, adaxial surface of calyx, and corolla lobe detail; D inflorescence. All from *Gardner* 5823. DRAWN BY BOBBI ANGELL.

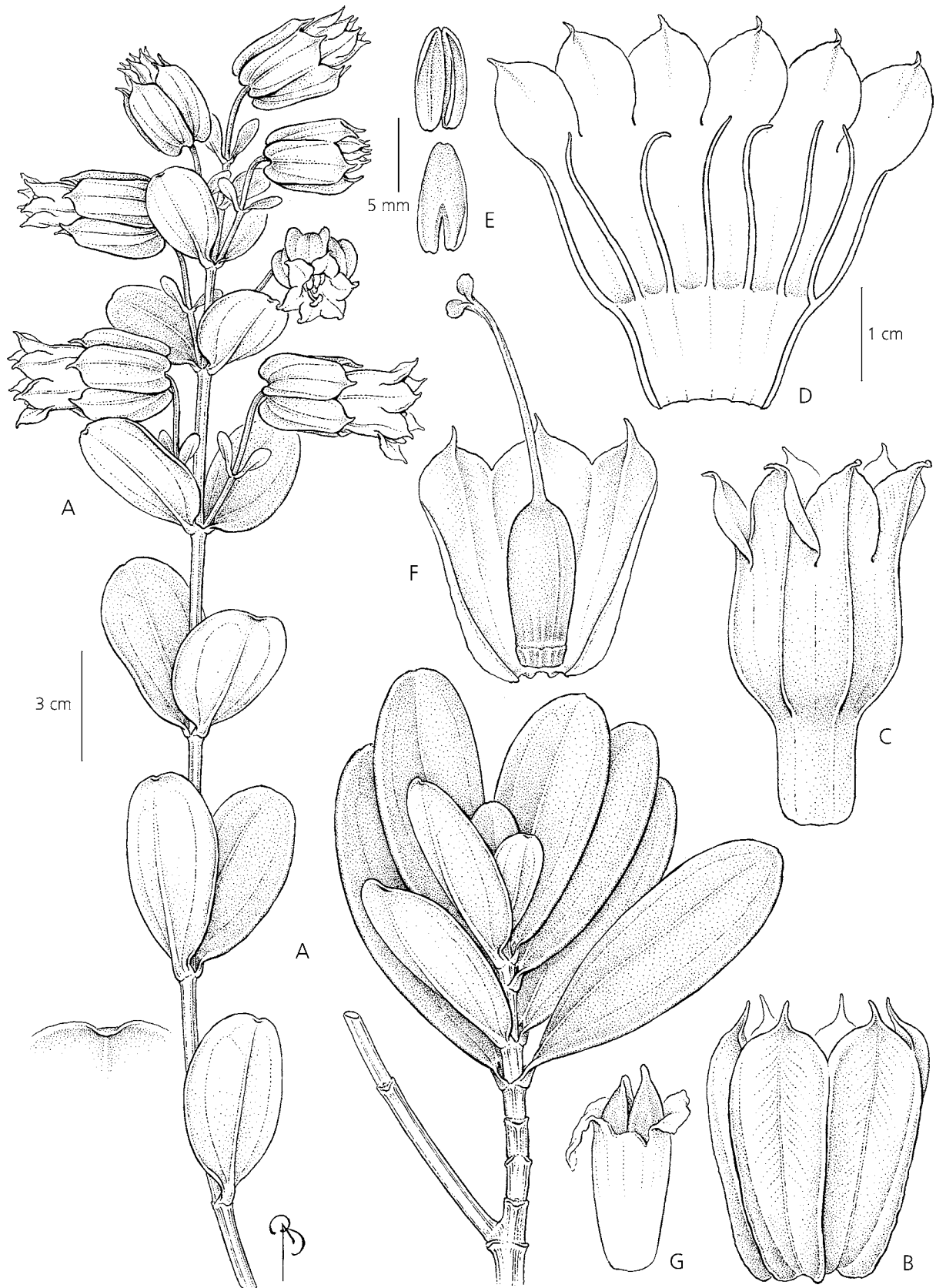


Fig. 5. *Prepusa montana*. A branch apex with inflorescence and leaf apex detail; B calyx; C corolla; D opened corolla (after anthesis); E abaxial and adaxial surface of anthers; F calyx and gynoecium; G fruit. A from *Hatschbach & Guimarães* 42398; B – G from *Mori & Boom* 14469. DRAWN BY BOBBI ANGELL.

on the BA 052 highway to Mundo Novo, 11°38'0"S 41°2'0"W, 31 May 1980, *Harley et al.* 22878 (AAU!, CEPEC!, K!, NY!, SPF!, US!) & Ferro Doido waterfall, s.d., *Martinelli et al.* 5259 (RB!) & 27 Oct. 1978, *Martinelli et al.* 5275 (GUA!, RB!) & 14 June 1975, *Pereira & Gusmão* s.n. (ALCB!) & 11°37'24"S 41°0'3"W, 10 July 2000, *Oliveira et al.* 64 (HUEFS!, SPF!) & 11°37'40"S 41°0'5"W, 28 June 1996, *Hind et al.* 3165 (ALCB!, CEPEC!, HUEFS!, IBGE, SPF!) & 20 km from Morro do Chapéu, 11°37'42"S 41°0'1"W, 30 Aug. 2003, *Cavalcanti et al.* 3214 (CEN, SPF!) & 25 Sept. 1985, *Wanderley et al.* s.n. (SP!) & road Lage do Batata-Morro do Chapéu, km 66, 11°27'S 41°7'W, 28 June 1983, *Coradin et al.* 6230 (CEN!, RB!) & road Morro do Chapéu-Jacobina, km 7, 11°6'0"S 41°2'0"W, 3 Oct. 1990, *Freire-Fierro et al.* 1767 (CHRB!, SPF!) & road to Bonito, 3 km SW, 10 July 1999, *Peixinho & Vanilda* s.n. (HUEFS!, SP!) & road to Utinga, 8 Sept. 1990, *Lima* 3900 (CEPEC!, K!, SPF!) & c. 5 km from Morro do Chapéu, 11°35'51"S 41°9'48"W, 18 July 2001, *Souza et al.* 26365 (ESA!, SP!) & 28 Jan. 2005, *Paula-Souza et al.* 4866 (ESA!) & summit of Morro do Chapéu, 16 July 1979, *Hatschbach & Guimarães* 42398 (AAU!, C!, CTES!, INPA!, MBM!, MO!, SPF!, UB!, US!) & c. 8 km SW of the town of Morro do Chapéu to W of the road to Utinga, 11°35'0"S 41°12'0"W, 30 May 1980, *Harley et al.* 22755 (CEPEC!, K!(2 sheets), SPF!) & transmission tower, 26 April 1999, *Amorim et al.* 3009 (CEPEC!, NY!, SP!) & 30 Aug. 1990, *Hage et al.* 2330 (CEPEC, HUEFS!, SP!, SPF!) & 30 Oct. 1978, *Martinelli* 5243 (CEPEC, K, MG, RB!) & c. 6 km S of Morro do Chapéu, 16 June 1981, *Mori & Boom* 14469 (NY!); Mucugê, 15 June 1984, *Hatschbach & Kumrow* 47930 (BR!, HUEFS!, MBM!, MO!, US!, UPCB!) & 1 km N of Mucugê, 13°0'0"S 41°23'7"W, 10 Oct. 1987, *Guedes et al.* 1543 (ALCB!) & 10 Oct. 1987, *Queiroz et al.* 1846 (HUEFS!, MBM!, NY!, UEC!) & Projeto de Sempreviva center, trail to Tiburtino, near Piabinha and Cumbuca rivers, 12°59'36"S 41°20'29"W, 25 March 2000, *Giulietti et al.* 1926 (HUEFS!) & road Mucugê-Abaira, c. 3 km to Mucugê, near the bridge, 13°14'0"S 41°20'29"W, 11 Aug. 1992, *Ganev* 816 (HUEFS!, K!, SP!, SPF!, NY!) & road Mucugê-Cascavel, km 3 – 6, near Paraguaçu river, 20 July 1981, *Menezes et al.* 1452 (CHRB!, HUEFS!, K!, SPF!) & 20 July 1981, *Menezes et al.* 5823 (K!, SPF!) & 13°00'18.9"S 41°23'29.9"W, 21 July 2006, *Calió et al.* 116 (SPF!) & road Mucugê-Guiné, 5 km from Mucugê, 7 Sept. 1981, *Furlan et al.* 1926 (CHRB!, K!, SPF!) & road to Jussiape, 3 km S of Mucugê, 13°0'S 41°24'W, s.d., *Mori et al.* 12552 (CEPEC!, RB!, US!) & Trilha to Sibéria, 26 June 1993, *Ferreira* 555 (CTES!, HRB!, MBM!, RB!) & Unidade de Manejo Sustentável, 12°59'59"S 41°20'46"W, 5 April 1997, *Bautista & Silva* 259 (HRB!); Without locality, 1914, *Lützelburg* 532 (M!, NY!).

HABITAT. *Campo rupestre* and *cerrado*, sometimes close to river margins and swamps; 700 – 1400 m.

CONSERVATION STATUS. VU B1ab(i,iii,iv)+2ab(i,iii,iv).

The range of *Prepusa montana* is highly fragmented but estimated to be less than 20,000 km² in total. Populations outside of protected areas are threatened by development and the expansion of settlements and agriculture. This species is classified as Vulnerable.

PHENOLOGY. Flowering specimens have been collected between Feb. and Oct., with a fruiting specimen found in March.

ETYMOLOGY. The epithet *montana* (mountain) reflects the high altitude areas where this species was first found.

5. *Prepusa viridiflora* Brade (1949: 18). Type: Brazil, Espírito Santo, Castelo, Forno Grande Pico, 12 Aug. 1948, *Brade* 19278 (holotype RB!; isotypes: RB! (7 sheets)).

Herbs, woody at base, 30 – 70 cm tall, unbranched. *Stems* 2 – 5 mm in diam. below inflorescence, internodes 2 – 11 (– 24) mm long at base of plant, (22 – 25 –) 86 – 168 (– 251) mm below inflorescence. *Leaves* elliptic to narrowly elliptic, oblanceolate, lanceolate, obovate or ovate, 25 – 106 × 7 – 30 mm, base connate less than $\frac{1}{10}$ of length, margin green and straight, apex acute or acuminate, some mucronate; 1 – 4 pairs of secondary veins. *Inflorescence* 61 – 300 mm long, 2 – 7-flowered; bracts elliptic to narrowly elliptic, obovate, oblanceolate or lanceolate, 15 – 23 × 4 – 12 mm, base connate less than $\frac{1}{10}$ of length, apex acute or acuminate; bracteoles 1 – 2 pairs per flower, inserted at $\frac{2}{5}$ – 1 of pedicel length (from base), terminal flower commonly lacks subtending bracteoles, oblanceolate, narrowly elliptic or obovate, 8 – 16 × 1.5 – 8.0 mm, base attenuate to connate less than $\frac{1}{10}$ of length, apex acute, some apiculate; pedicel (16 – 18 –) 37 – 90 (– 135) mm long at anthesis, 0.8 – 2.5 mm in diam. *Calyx* light green, brownish-green, yellowish-green, campanulate, 33 – 46 × 25 – 33 mm at anthesis, papillate on the inner side, not papillate on the outer side, dorsally winged, wings 2.3 – 4.1 mm wide, not reaching the calyx tube apex; lobes triangular, 11 – 20 × 7.5 – 11.2 mm, apex acute or acuminate. *Corolla* greenish-yellow, yellow, green, funnel-shaped, 36 – 39 (– 45) mm long, 0.9 – 1.0 times longer than calyx; tube 24 – 25 mm long, 2.5 – 4.5 mm wide at base, 5.7 – 6.5 mm wide below filament insertion, 12 – 23 mm wide at mouth; lobes widely ovate, 12 – 15 × 9.8 – 11.0 mm, margin crenulate, apex caudate. *Filaments* slightly unequal or equal in length, not twisted when dry, 22 – 26 mm long; anthers 4.9 – 5.0 mm long, attached to filament 1.7 – 2.1 mm from anther base. *Ovary* 10 – 15 mm long; style 16 – 20 mm long; stigma lobes very widely ovate or oblong, 3.0 – 3.3 mm long. *Fruit* ovoid, 16 mm long. Fig. 6.

DISTRIBUTION. Brazil, Espírito Santo. Occurring on Atlantic mountains (Parque Estadual da Pedra Azul and Parque Estadual do Forno Grande). Map 1.

SPECIMENS EXAMINED. Espírito Santo: road Manhuaçu-Vitória, km 89, 7 Sept. 1977, *Shepherd et al.* 5834 (UEC!); Castelo, Parque Estadual do Forno Grande, 12 May 1949, *Brade* 19782 (RB!) & 13 Oct. 2000, *Fraga & Kollmann* 722 (MBML!, RB!) & 13 Oct. 2000, *Kollmann & Fraga* 3188 (MBML!, SPF!); Domingos Martins, Pedra Azul, 15 June 1985, *Hatschbach & Silva* 49407 (C!, MBM!, MO!, US!) & 19 Oct. 1994, *Vieira & Gurken* 650 (HB!) & road Vitória-Belo Horizonte, km 89, 16 June 1984, *Shepherd & Pereira* s.n. (ALCB! UEC!); Without locality, 1969, *Marx* s.n. (RB!) & 3 Sept. 1967, *Duarte* 10469 (HB!, RB!).

HABITAT. *Campo de altitude*, 1000 – 1200 m.

CONSERVATION STATUS. EN B1ab(i,iii,iv)+2ab(i,iii,iv). *Prepusa viridiflora* is restricted to two localities, c. 70 km apart, and classified as Endangered.

PHENOLOGY. Flowering specimens have been found in May, June, and Aug. to Oct.

ETYMOLOGY. *Prepusa viridiflora* was named for its green calyx and corolla.

Senaea *Taub.* (1893: 515). Type species: *Senaea coerulea* *Taub.*

Shrubs to small trees, glabrous, branched. *Stems* cylindrical at base, cylindrical to quadrangular below

inflorescence, with numerous, discontinuous, thin vertical ridges plus two pairs of prominent, continuous vertical ridges that extend from each interstipular line to node directly below. *Leaves* not clustered at base or at branch apices, green, sessile, fleshy; margin entire, hyaline, green; venation acrodromous, primary and secondary veins conspicuous, tertiary veins inconspicuous. *Inflorescence* terminal, thyrsoid; bracts and bracteoles leaflike with entire, hyaline margins. *Flowers* actinomorphic, perfect, 6-merous, pedicellate. *Calyx* green to purplish-green, campanulate, inflated, membranaceous or marcescent; lobes equal or with deeper divisions between every second or third lobe; colleters present on inside of calyx. *Corolla* blue to purple, campanulate, with a constriction at the level of stamen insertion and widening above, membranaceous, papillate on inside and outside; lobes aestivation contort. *Stamens* 6, equal in length, exerted, inserted in the corolla tube, usually in the lower third; filaments filiform, twisted when dry; anthers yellow, narrowly ovoid, sagittate at base, dorsifixed, with sterile appendix on apex, introrse. *Ovary* ovoid; style slender, flattened and twisted when dry; stigma bilamellate; placentation parietal; ovules numerous. *Fruit* a capsule, unilocular, 2-valvate, many-seeded, with persistent calyx, corolla, and style.

Senaea comprises two species, which are reported from high altitude areas of the Brazilian states of Minas Gerais and Rio de Janeiro. Map 2.

Key to the species of *Senaea*

1. Leaves oblanceolate, obtuse and mucronate at apex; pedicels papillate; calyx papillate on outside, calyx lobe apices longer than 1.6 mm; corolla 29 – 30 mm long, corolla lobes lanceolate; filaments 16.6 – 17.1 mm long; ovary c. 9 – 10 mm long; style c. 16 mm long. (Minas Gerais) **6. *S. coerulea***
1. Leaves elliptic, acute at apex; pedicels not papillate; calyx not papillate on outside, calyx lobe apices shorter than 0.8 mm; corolla 20 – 23 mm long, corolla lobes ovate; filaments 9.2 – 12.0 mm long; ovary c. 6 mm long; style 9.5 – 12.5 mm long. (Rio de Janeiro) **7. *S. janeirensis***

6. *Senaea coerulea* *Taub.* (1893: 516); Gilg (1895: 96). Type: Brazil, Minas Gerais, Biribiry (sic), 29 March 1892, *Glaziou* 19739, (holotype C; isotypes K!, P!).

Shrubs to small trees, up to 2 m tall, branched. *Stems* 3.1 – 3.3 mm in diam. below inflorescence, internodes 19 – 60 mm long below inflorescence. *Leaves* oblanceolate, 61 – 105 × 13 – 31 mm, base long attenuate, margin revolute, apex obtuse and mucronate or mucronulate; 1 – 2 pairs of secondary veins. *Inflorescence* 90 – 180 mm long, 15 – 31-flowered; bracts oblanceolate, linear or rarely narrowly elliptic, 17 – 77 × 1.2 – 20.0 mm, base attenuate, apex obtuse and mucronate, acute or

acuminate; bracteoles 1 pair per flower, inserted at $\frac{3}{5}$ – $\frac{9}{10}$ of pedicel length (from base), terminal flower commonly lacks subtending bracteoles, linear, 7.4 – 16.0 × 0.3 – 1.3 mm, base attenuate to truncate, apex acute to acuminate; pedicel 1.9 – 12.0 mm long, 0.7 – 0.9 mm in diam., papillate. *Calyx* not winged, 6.9 – 12 × 5.0 – 5.8 mm at anthesis, not papillate on the inner side, papillate on the outer side; lobes transversely elliptic or narrowly transversely elliptic, 2.0 – 2.5 × 1.7 – 4.3 mm. *Corolla* 29 – 30 mm long, 2.5 – 3.3 times longer than calyx; tube 13.5 – 16.1 mm long, 2.0 – 2.5 mm wide at base, 5.0 – 5.2 mm wide below filament insertion, 5.5 – 13 mm wide above filament insertion,

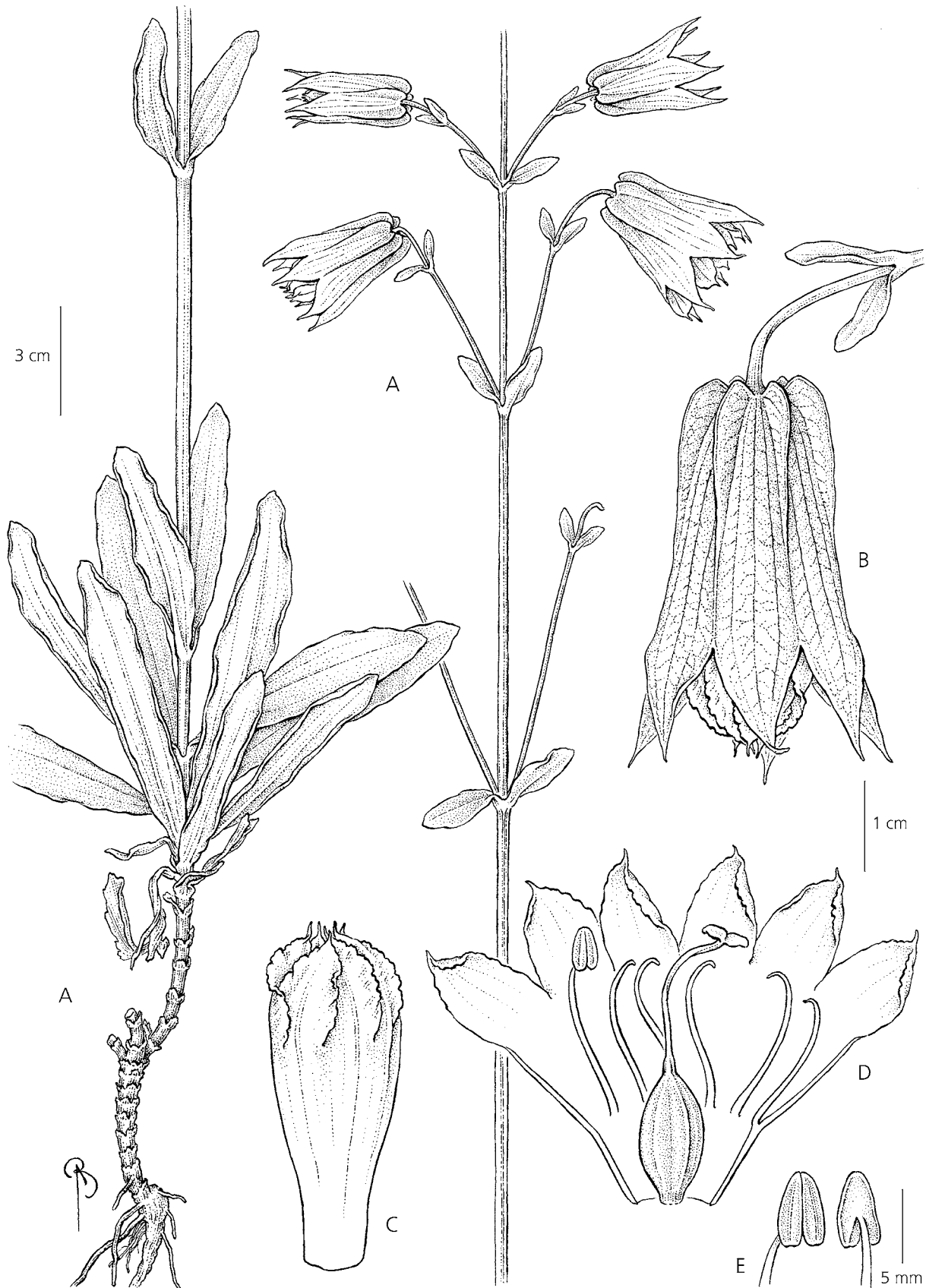


Fig. 6. *Prepusa viridiflora*. A habit; B flower; C isolated corolla; D opened corolla and gynoecium; E abaxial and adaxial surfaces of anthers. All from *Hatschbach & Silva 49707*. DRAWN BY BOBBI ANGELL.

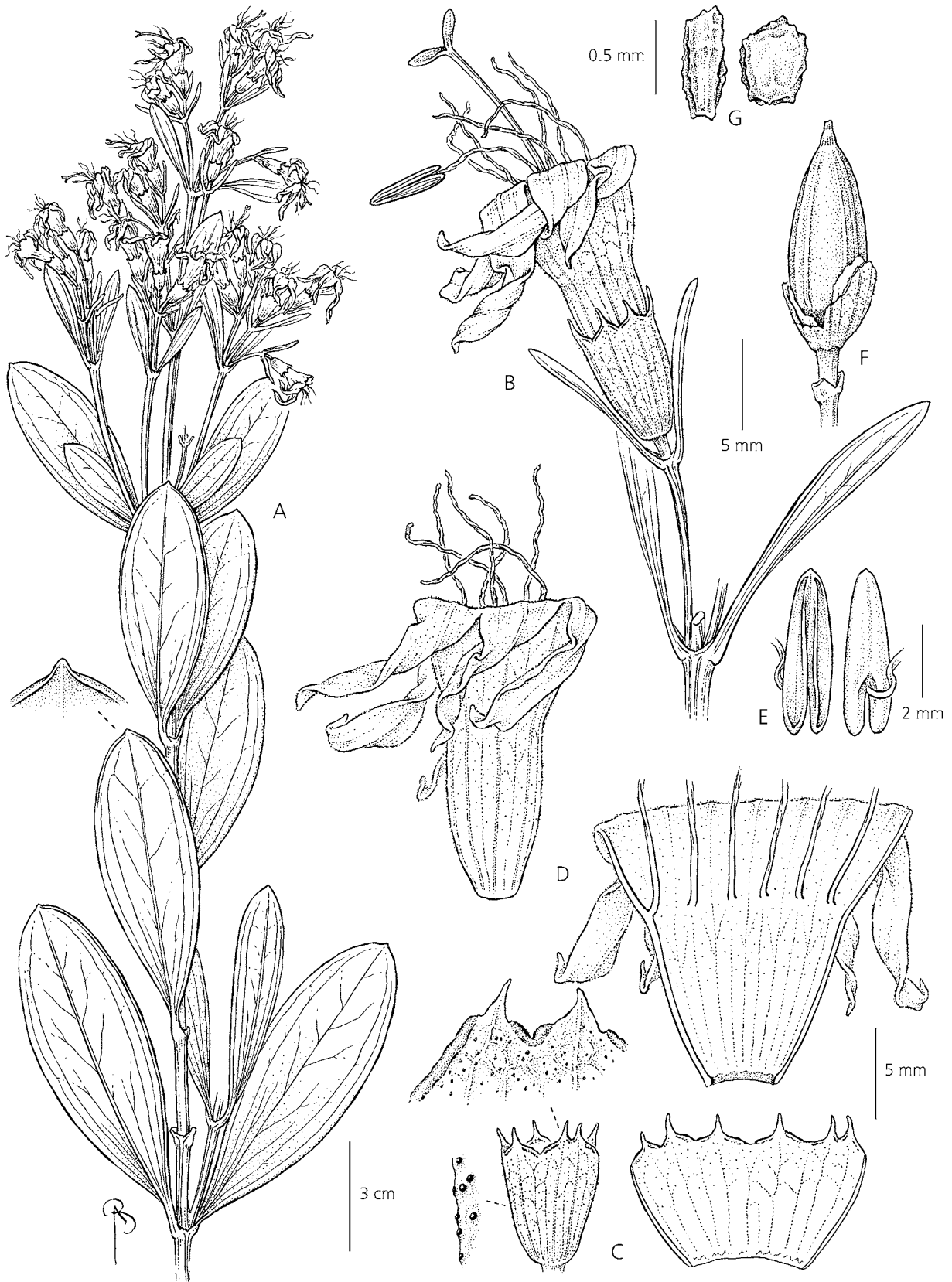


Fig. 7. *Senaea coerulea*. A branch apex with inflorescence and leaf apex detail; B flower; C calyx (from side and opened); D corolla (side view and opened); E abaxial and adaxial surfaces of anthers; F fruit; G seeds. All from *Glaziou* 19739. DRAWN BY BOBBI ANGELL.

13.0 – 19.3 mm wide at mouth; lobes lanceolate, 13.8 – 16.0 × 4.1 – 6.2 mm, margin entire, undulate or crenulate, apex acute. *Filaments* 16.6 – 17.1 mm long; anthers 4.2 – 4.7 mm long, attached to filament at 1.4 – 1.7 mm from anther base. *Ovary* 9 – 10 mm long; style c. 16 mm long; stigma lobes oblong, 1.8 – 2 mm long. *Fruit* ovoid, c. 13 mm long. Fig. 7.

DISTRIBUTION. Brazil. Minas Gerais. Occurring in Cadeia do Espinhaço in scattered locations. Map 2.

SPECIMENS EXAMINED. Minas Gerais: Carmo do Rio Claro, Fazenda Córrego Bonito, 7 Sept. 1961, *Andrade & Emmerich* 1110 (HB!); Congonhas do Norte, Serra da Mangabeira, close to Rio Preto, 18°5'0"S 43°49'0"W, 23 April 1982, *Amaral et al.* CFSC 8476 (SP!, SPF!); Diamantina, 20 Jan. 1947, *Romariz* 127 (RB!) & 1904, *Schwacke* s.n. (BHCB!).

HABITAT. *Campo rupestre* and *cerrado*, sometimes, on sandy soils close to river margins.

CONSERVATION STATUS. CR A4abc; B2ab(i,ii,iii,iv). *Senaea coerulea* is here classified as Critically Endangered, although it is not certain if this species still exists in the wild, since it has not been collected for over 20 years. The places where it was collected are now mainly occupied by towns or pasture areas, and its extent of occurrence must therefore be very fragmented if the species is still extant.

PHENOLOGY. Flowering specimens have been collected in Jan., April (also with fruits), and Sept.

ETYMOLOGY. *Senaea coerulea* was named for its blue corolla.

7. *Senaea janeirensis* Brade (1932: 118). Type: Brazil, Rio de Janeiro, Serra do Imbé, Alto da República, 1500 m, April 1932, *Brade & Santos Lima* 11784 (holotype R!).

Shrubs to small trees, 40 – 150 cm tall, branched. *Stems* 3.5 – 6.0 mm in diam. below inflorescence, internodes 23 – 40 mm long below inflorescence. *Leaves* narrowly elliptic, 50 – 80 × 15 – 28 mm, base long attenuate, margin revolute, apex acute; 2 pairs of secondary veins. *Inflorescence* 40 – 150 mm long, 11 – 35-flowered; bracts linear, narrowly elliptic or rarely elliptic, 12 – 53 × 1 – 22 mm, base attenuate, apex acute or acuminate; bracteoles 1 pair per flower, inserted at $\frac{3}{5}$ – $\frac{9}{10}$ of pedicel length (from base), terminal flower commonly lacks subtending bracteoles, linear or rarely narrowly oblong, 7.2 – 15.0 × 0.6 – 1.6 mm, base attenuate to truncate, apex acuminate; pedicel 6 – 20 mm long, 0.8 – 1.4 mm in diam., not papillate. *Calyx* not winged, 6.9 – 8.0 × 5.2 – 8.5 mm at anthesis, not papillate; lobes transversely elliptic or narrowly transversely elliptic, 0.7 – 2.8 × 2.0 – 4.3 mm, apex caudate to mucronate. *Corolla* 20 – 23 mm long, c. 2.9 times longer than calyx; tube 11 – 12 mm long, c. 3.5 mm wide at base, 5.2 – 6.5 mm wide below filament insertion, 5.4 – 10.0 mm wide above filament inser-

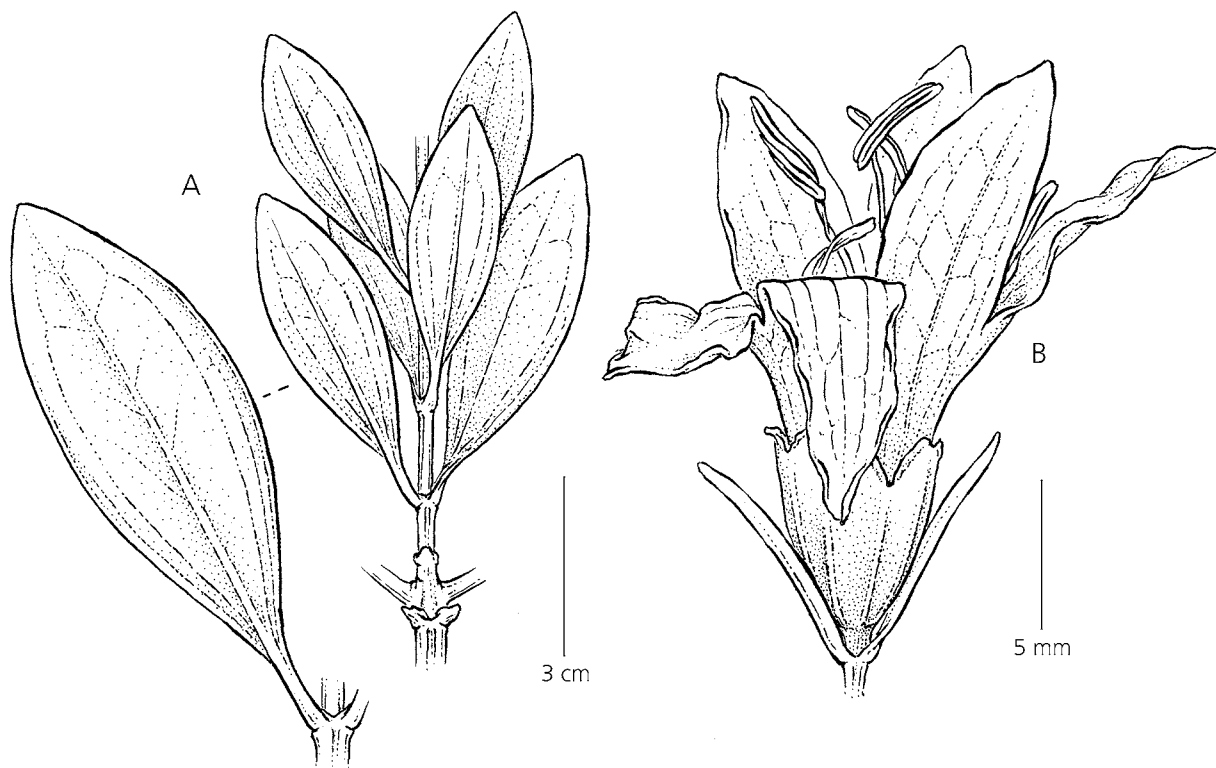


Fig. 8. *Senaea janeirensis*. A branch apex and leaf detail; B flower. All from *Santos Lima & Brade* 14215. DRAWN BY BOBBI ANGELL.

tion, 8 – 10 mm wide at mouth; lobes ovate, 9 – 11 × 4.1 – 5.0 mm, margin entire, undulate or crenulate, apex acute to acuminate. *Filaments* 9.2 – 12.0 mm long; anthers 4.8 – 5.3 mm long, attached to filament at 2.0 – 2.5 mm from anther base. *Ovary* c. 6 mm long; style 9.5 – 12.5 mm long; stigma lobes elliptic, 1.8 – 2.3 mm long. *Fruit* not seen. Fig. 8.

DISTRIBUTION. Brazil, Rio de Janeiro. Occurring on Pedra da República and Pedra do Desengano (Parque Estadual do Desengano). Map 2.

SPECIMENS EXAMINED. Rio de Janeiro: Santa Maria Madalena, Nov. 1933, *Santos Lima* 217 (RB!, U!) & Parque Estadual do Desengano, Pedra da República, 3 March 1935, *Santos Lima & Brade* 14215 (RB!) & March 1937, *Santos Lima* 62 (RB!) & Pedra do Desengano, 17 Dec. 1986, *Martinelli et al.* 12003 (RB!).

HABITAT. *Campo de altitude*, 1500 – 1600 m.

CONSERVATION STATUS. CR A4b; B1ab(i,ii)+2ab(i,ii). *Senaea janeirensis* is classified as Critically Endangered due to its small extent of occurrence, restricted to only one mountain peak. It has not been collected for over 20 years.

PHENOLOGY. Flowering specimens have been found in March, and Nov. to Dec.

ETYMOLOGY. *Senaea janeirensis* was named after its geographic locality, Rio de Janeiro.

Acknowledgements

This research was supported by NSF (grant 317612 to LS), New York Consortium (planning grant to LS and JRP), FAPESP (Ph.D. fellowship 03/10918 – 3 to MFC), and IAPT Research grant (2006, to MFC). We thank Jason R. Grant for help coding morphological features of *Macrocarpaea*, Daniela Zappi and Inês Cordeiro for suggesting groups of plants with similar patterns of distribution, Richard Winkworth for helping with analyses, Philip Miarmi for providing the maps, Bobbi Angell for specimen illustrations, and all herbaria and their staff mentioned under Material and Methods for loans. We also thank Thomas Waytt and the two anonymous reviewers for comments and suggestions.

Appendix A

Morphological characters with states coded.

1. **Habit:** herbaceous, not woody (0)/woody only at base (1)/woody from base to apex (2)
2. **Prominent decurrent ridges on stems:** absent (0)/present (1)
3. **Leaf arrangement at base:** not in basal rosette (0)/basal rosette (1).
Taxa presenting leaves evenly distributed along stem (and not grouped at base) were coded as “not in basal rosette”.
4. **Leaf general texture:** membranaceous (0)/fleshy, choriaceous (1)

5. **Leaf margin texture:** hyaline, membranaceous (0)/not hyaline, chartaceous or choriaceous (1)

6. **Leaf apex and margin color:** green (0)/red to magenta (1)

7. **Leaf apex shape:** acute or acuminate (0)/obtuse (1)

8. **Leaf connation at base:** not connate (0)/connate (1).
Leaf base is attenuate for most species, but some species have leaves connate at base.

9. **Leaves venation:** acrodromous (0)/brochidrodromous, pinnate (1)

10. **Midrib prominence below:** absent (0)/present (1)

11. **Petiole:** absent (0)/present (1)

12. **Bracts base:** not connate (0)/slightly connate (1)/strongly connate (2).

Bracts were coded as “not connate” when they were attenuate at base, as “slightly connate” when the bracts were connate only $\frac{1}{10}$ of their total length, and as “strongly connate” when the connation was superior than $\frac{2}{5}$ of the bract total length.

13. **Bracteoles subtending terminal flower:** absent (0)/present (1)

14. **Calyx merosity:** 4 (0)/5 (1)/6 (2)

15. **Calyx main colour:** green, yellow, cream (0)/red, purple (1)

16. **Calyx overall shape:** urceolate (0)/campanulate (1).
Calyx was coded as “urceolate” when it was constricted at mouth and as “campanulate” when the mouth was broader or as broad as the calyx tube.

17. **Calyx texture:** membranaceous (0)/coriaceous (1)
Membranaceous calyces are those with thin texture, while coriaceous calyces are leathery and thick.

18. **Calyx papillae on the outside:** absent (0)/present (1)

19. **Calyx papillae on the inside:** absent (0)/present (1)

20. **Calyx dorsal thickening:** absent (0)/present (1)
The calyx dorsal thickening is a glandular area that is more prominent than the rest of the calyx.

21. **Calyx wings:** absent (0)/present (1)

22. **Corolla symmetry:** actinomorphic (0)/zygomorphic (1)

23. **Corolla merosity:** 5 (0)/6 (1)

24. **Corolla basic colour:** white, cream, yellow (0)/blue, rose, purple (1)

25. **Corolla tube below stamen insertion:** not constrained (0)/constrained (1)

26. **Corolla papillae on both sides of corolla:** absent (0)/present (1)

27. **Corolla fleshiness:** not fleshy (0)/fleshy (1)

28. **Corolla bud apex:** acute (0)/round (1)

29. **Stamen length:** equal (0)/unequal (1)

30. **Position of stamens:** included in corolla (0)/exserted from corolla (1)

31. **Filaments in cross-section:** filiform (0)/flattened (1)

32. **Pollen aggregation:** monads (0)/tetrads (1)/polyads (2)

33. **Style cross-section:** cylindrical (0)/flattened (1)

Martinelli 240 (2) (BR, CEN!, CEPEC, F, GUA!, K, LIL, MG, MO, MBM!, RB!), 602 (2) (RB!), 2561 (2) (RB!), 5243 (4) (CEPEC, K, MG, RB!), 9889 (2) (RB!); *Martinelli* & *Santos* 6125 (2) (RB!); *Martinelli* & *Simonis* 9055 (3) (RB!, US!); *Martinelli et al.* 5259 (4) (RB!), 5275 (4) (GUA!, RB!), 5425 (4) (RB!), 5507 (4) (RB!), 9335 (2) (RB!), 11148 (2) (RB!), 12003 (7) (RB!), 13140 (1) (RB!); *Marx* s.n. (5) (RB!); *Menezes et al.* 1452 (4) (CHRB!, HUEFS!, K!, SPF!), 5823 (4) (K!, SPF!); *Mori* & *Boom* 14469 (4) (NY!); *Mori et al.* 12552 (4) (CEPEC!, RB! US!); *Moura* s.n. (3) (R!)

Newton Santos & *Frota Pessoa* s.n. (3) (R!)

Oliveira et al. 64 (4) (HUEFS!, SPF!); *Orlandi* 268 (4) (HRB!, HUEFS!)

Paula-Souza et al. 4866 (4) (ESA!); *Peixinho* & *Vanilda* s.n. (4) (HUEFS!, SP!); *Pederneras* 16 (2) (R!); *Pereira* 2020 (4) (GUA!, RB!); *Pereira* & *Duarte* 10118 (4) (F, HB!, K, M!); *Pereira* & *Gusmão* s.n. (4) (ALCB!); *Pinto* 116/85 (4) (HRB!, UB!)

Queiroz et al. 1846 (4) (HUEFS!, MBM!, NY!, UEC!)

Ribeiro s.n. (3) (R!); *Ribeiro et al.* 2280 (2) (GUA!); *Romarez* 127 (6) (RB!)

Saldanha 7357 (3) (RB!); *Santos et al.* 1221 (3) (HB!, R!); *Santos Lima* 62 (7) (RB!), 217 (7) (RB!, U!); *Santos Lima* & *Brade* 14101 (1) (RB!), 14215 (7) (RB!); *Schwacke* s.n. (6) (BHCB!); *Shepherd* & *Kirschanzafit* 9958 (3) (UEC!); *Shepherd* & *Pereira* s.n. (5) (ALCB!, UEC!); *Shepherd et al.* 5834 (5) (UEC!); *Silva* s.n. (3) (RB!); *Simonis* & *Martinelli* 20 (2) (RB!), 26 (3) (NY!, RB!); *Souza* & *Brito* s.n. (4) (ALCB!); *Souza et al.* 26365 (4) (ESA!, SP!); *Strang* 272 (3) (GUA!)

Vianna 116 (3) (RB!); *Vidal* 182 (3) (R!), 330 (3) (R!), 597 (3) (R!), 6431 (3) (R!), 6447 (3) (R!), 6480 (3) (R!); *Vieira* & *Gurken* 650 (5) (HB!); *Vilaça* & *Ribeiro* 127 (3) (GUA!)

Wanderley et al. s.n. (4) (SP!)

References

- Barroso, G. M. (1986). Sistemática de angiospermas do Brasil, V. 3, p. 57. Imprensa Universitária, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Brasil.
- Brade, A. C. (1932). Espécies novas de plantas do estado do Rio de Janeiro. Arq. Mus. Nac. Rio de Janeiro 34: 118.
- . (1949). Contribuição para o conhecimento da flora do estado do Espírito Santo – II. espécies novas das famílias *Orchidaceae*, *Rubiaceae* e *Gentianaceae*. Arch. Jard. Bot. Rio de Janeiro 9: 18.
- Cordeiro, I. (1987). Flora da Serra do Cipó: *Gentianaceae*. Bol. Bot. Univ. São Paulo 9: 227 – 242.
- Gardner, G. (1839). Icon. Pl. 31: 225. Longman, Rees, Orme, Brown, Green & Longman, London.
- . (1842). Bot. Mag. 15: 3909. Stephen Couchman, London.
- Gilg, E. F. (1895). *Gentianaceae*. In: H. G. A. Engler & K. A. E. Prantl (eds.), Nat. Pflanzenfam. 4 (2): 50 – 108. Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- Giulietti, A. M. & Pirani, J. R. (1988). Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço range, Minas Gerais and Bahia, Brazil. In: P. E. Vanzolini & H. R. Heyer (eds.), Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns: 39 – 69. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.
- Grisebach, A. H. R. (1839). Gen. sp. Gent. J. G. Cotta, Stuttgart, Tübingen.
- . (1845). *Gentianaceae*. In A. L. P. P. de Candolle (ed.) Prodr.: *Gentianaceae*. 9. Fortin, Masson et Sociorum, Paris.
- Harley, R. M. & Simmons, N. A. (1986). Florula of Mucugê, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. A descriptive check-list of the campo rupestre area. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Huelsenbeck, J. P. & Ronquist, F. (2001). MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. Bioinformatics 17: 754 – 755.
- IUCN (2001). IUCN Red List categories and criteria. Version 3.1. IUCN, Gland, Switzerland & Cambridge, U.K.
- Maddison, D. R. & Maddison, W. P. (2005). MacClade 4: Analysis of phylogeny and character evolution, vers. 4.08. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, U.S.A.
- Martius, C. F. P. Von. (1827). Nov. Gen. sp. pl. 2 (2): 121. Wolf, München.
- Mészáros, S., De Laet, J., Goethals, V., Smets, E. & Nilsson, S. (2002). Cladistics of *Gentianaceae*: a morphological approach. In: L. Struwe & V. A. Albert (eds.), *Gentianaceae*. systematics and natural history, pp. 310 – 376. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Nilsson, S. (2002). A review of palynology. In: L. Struwe & V. A. Albert (eds.), *Gentianaceae*. systematics and natural history, pp. 377 – 497. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Porto, P. C. & Brade, A. C. (1935). Contribuição para a Flora Fluminense. Arq. Inst. Biol. Veg. 13: 222.
- Progel, A. (1865). *Gentianaceae*. In: C. F. P. Von Martius, Fl. Bras. 6 (1): 198 – 247. München.
- Radford, A. E., Dickison, W. C., Massey, J. R., & Bell, C. R. (1974). Vascular Plant Systematics. Harper & Row Publishers Inc., New York.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed model. Bioinformatics 19: 1572 – 1574.
- Safford, H. D. (1999). Brazilian Páramos I: an introduction to the physical environment and vegetation of campos de altitude. J. Biogeogr. 26: 693 – 712.
- . & Martinelli, G. (2000). Southeast Brazil. In: S. Porembski, & W. Barthlott (eds.), Inselbergs— Biotic diversity of isolated rock outcrops in tropical

- and temperate regions, pp. 339 – 389. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Stearn, W. T. (1992). *Botanical Latin — History, Grammar, Syntax, Terminology and Vocabulary*. 4th edition. Timber Press, Portland, Oregon.
- Struwe, L., Albert, V. A., Calió, M. F., Frasier, C., Lepis, K. B., Mathews, K. G. & Grant, J. R. (submitted). Evolutionary patterns in neotropical *Helieae* (*Gentianaceae*): evidence from morphology, chloroplast and nuclear DNA sequences. *Taxon*.
- , Kadereit, J. W., Klackenberg, J., Nilsson, S., Thiv, M., von Hagen, K. B. & Albert, V. A. (2002). Systematics, character evolution, and biogeography of *Gentianaceae*, including a new tribal and subtribal classification. In: L. Struwe, & V. A. Albert (eds.), *Gentianaceae*: systematics and natural history, pp. 21–309. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
- Swofford, D. L. (2003). PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), vers. 4.0. Sinauer Associates Inc., Sunderland, Massachusetts, U.S.A.
- Taubert, P. (1893). *Plantae glaziovianae novae vel minus cognitae* IV. *Bot. Jahrb. Syst.* 17: 516.
- Veloso, H. P., Rangel Filho, A. L. R. & Lima, J. C. A. (1991). *Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal*. IBGE, Departamento de Recursos Naturais e Estudos Ambientais, Rio de Janeiro.
- Weberling, F. (1989). *Morphology of flowers and inflorescences*. Cambridge University Press, New York.

— ANEXO 2 —

**EVOLUTIONARY PATTERNS IN NEOTROPICAL HELIEAE (GENTIANACEAE):
EVIDENCE FROM MORPHOLOGY, CHLOROPLAST AND NUCLEAR DNA SEQUENCES
STRUWE L, ALBERT VA, CALIÓ MF, FRASIER C, LEPIS KB, MATHEWS KG & GRANT JR
TAXON 58(2):479-499 (2009)**

Evolutionary patterns in neotropical Helieae (Gentianaceae): evidence from morphology, chloroplast and nuclear DNA sequences

Lena Struwe^{1,2}, Victor A. Albert³, M. Fernanda Calió⁴, Cynthia Frasier², Katherine B. Lepis², Katherine G. Mathews⁵ & Jason R. Grant⁶

¹ Department of Ecology, Evolution, and Natural Resources, Rutgers University, 237 Foran Hall, 59 Dudley Road, New Brunswick, New Jersey 08901, U.S.A. struwe@aesop.rutgers.edu (author for correspondence)

² Department of Plant Biology and Pathology, Rutgers University, 59 Dudley Road, New Brunswick, New Jersey 08901, U.S.A.

³ Department of Biological Sciences, 109 Cooke Hall, University at Buffalo (SUNY), Buffalo, New York 14260, U.S.A.

⁴ Departamento de Botânica, Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, Rua do Matão, travessa 14, n° 321, CEP: 05508-090, São Paulo, SP, Brazil

⁵ Department of Biology, Western Carolina University, 132 Natural Science Building, Cullowhee, North Carolina 28723, U.S.A.

⁶ Laboratoire de botanique évolutive, Institut de botanique, Faculté des Sciences, Université de Neuchâtel, rue Émile-Argand 11, Case Postale 158, 2009 Neuchâtel, Switzerland

Parsimony-based phylogenetic analyses of the neotropical tribe Helieae (Gentianaceae) are presented, including 22 of the 23 genera and 60 species. This study is based on data from morphology, palynology, and seed micromorphology (127 structural characters), and DNA sequences (*matK*, *trnL* intron, ITS). Phylogenetic reconstructions based on ITS and morphology provided the greatest resolution, morphological data further helping to tentatively place several taxa for which DNA was not available (*Celiantha*, *Lagenanthus*, *Rogersonanthus*, *Roraimaea*, *Senaea*, *Sipapoantha*, *Zonanthus*). *Celiantha*, *Prepusa* and *Senaea* together appear as the sister clade to the rest of Helieae. The remainder of Helieae is largely divided into two large subclades, the *Macrocarpaea* subclade and the *Symbolanthus* subclade. The first subclade includes *Macrocarpaea*, sister to *Chorisepalum*, *Tachia*, and *Zonanthus*. *Irlbachia* and *Neblinantha* are placed as sisters to the *Symbolanthus* subclade, which includes *Aripuana*, *Calolisianthus*, *Chelonanthus*, *Helia*, *Lagenanthus*, *Lehmanniella*, *Purdieanthus*, *Rogersonanthus*, *Roraimaea*, *Sipapoantha*, and *Symbolanthus*. Generic-level polyphyly is detected in *Chelonanthus* and *Irlbachia*. Evolution of morphological characters is discussed, and new pollen and seed characters are evaluated for the first time in a combined morphological-molecular phylogenetic analysis.

KEYWORDS: evolution, Gentianaceae, Gentianales, Helieae, molecular systematics, morphology

INTRODUCTION

The gentian tribe Helieae is a highly diverse assemblage of neotropical plants. This group of 23 genera and over 200 species includes species ranging from Andean cloud forest trees to diminutive annual herbs from seasonally flooded lowland savannas (Table 1). The Helieae have received attention for showing high generic diversity on the tepuis of the Guayana Highlands, as well as high species diversity in the Andes (Struwe & al., 1999, 2002). On the Guayana Shield, several endemic genera were described by the tepui explorers of the 20th Century, with many species found on only one or a few of these isolated mountain tops (Maguire, 1981; Maguire & Boom, 1989). Similarly, the largest genus, *Macrocarpaea*, has around 105 primarily Andean species distributed from Costa Rica to Bolivia, but often with narrowly restricted distributions (Grant, 2004, 2005, 2007). Helieae taxa are also found in

all tropical areas of Brazil, the Guianas, and on a few islands in the Caribbean. One genus, *Chelonanthus*, reaches southern Mexico. Some of the better known genera of Helieae are *Chelonanthus*, *Irlbachia*, *Macrocarpaea*, *Symbolanthus*, and *Tachia*. From a pharmacological point of view, *Chelonanthus alatus* and *Tachia grandiflora* are used in traditional medicine to treat malaria, fungal diseases, and other ailments (Jensen & Schripsema, 2002).

In addition to distributional diversity, this group contains a diverse array of variations on the gentian floral bauplan, from hanging red and tubular hummingbird-flowers, funnel-shaped flowers visited by bats, moths, and hummingbirds, as well as smaller presumably bee-pollinated flowers. Habit ranges from small annuals to large trees, but flower morphology shows larger variation than vegetative morphology within the tribe. A suite of morphological characteristics distinguishes Helieae from other tribes, such as broadly bilamellate stigmas, long styles that become

Table 1. Species numbers, revisions, distributions, and morphological characteristics for Helieae genera (asterisks indicate genera found to be paraphyletic).

Taxon	Revisions or other treatments		Distribution	Field characters
	Spp.			
<i>Adolisanthus</i> Gilg	1	Struwe & al., 1999; Lepis, in progress	Brazil, Venezuela (white-sand)	Tree/shrub, monochasial inflorescence, campanulate, green corollas, reticulate pollen tetrads
<i>Aripuana</i> Struwe, Maas & V. Albert	1	Struwe & al., 1997	Central Brazil (white-sand)	Small tree, dichasial inflorescence, long, contort-valvate, narrow white corolla, reticulate pollen tetrads
<i>Calolisianthus</i> Gilg	~6	Calió & al., in progress	Central and Eastern Brazil	Herb, mono- or dichasial inflorescences, large, red or pink (rarely white) corollas, tetrads or polyads
<i>Celicantha</i> Maguire	3	Struwe & al., 1999	Guayana Shield (tepui)	Suffrutescent herbs, terminal inflorescences, 4–5-merous flowers, acuminate corolla lobes, pollen polyads with globs
<i>Chelonanthus</i> Gilg*	10	Struwe & al., 1999; Lepis & al. 2006; Lepis, 2009	Neotropics (often white-sand)	Herb/suffrutescent herbs, monochasial/dichasial inflorescences, green corollas, reticulate pollen tetrads
<i>Chorisepalum</i> Gleason & Wodehouse	5	Ewan, 1947; Struwe & al., 1999	Guayana Shield (tepui)	Tree/shrub, 4 sepals, 6 corolla lobes, green, reticulate pollen monads
<i>Helia</i> Mart.	2–3	Calió, in progress	Central and Eastern Brazil	Herb, basal leaves, dichasial inflorescences., salver-shaped, green, white to yellow corolla, reticulate pollen tetrads
<i>Irbachia</i> Mart.*	ca. 9	Struwe & al., 1999	Amazonia, Guayana Shield	Herb, monochasial inflorescences, short corolla tube, white, blue, pink corolla, spiny pollen polyads
<i>Lagenanthus</i> Gilg	1	Ewan, 1952; Maas, 1985	Colombian and Venezuelan Andes	Shrub, flowers very long, banded colors, inflated corollas
<i>Lehmanniella</i> Gilg	2	Maas, 1985	Colombian and Venezuelan Andes	Scandent suffrutescent herbs, terminal inflorescences, red, tubular corollas, constricted at throat
<i>Macrocarpaea</i> Gilg	107+	Ewan, 1948a; Grant, 2003, 2004, 2005, 2007, 2008; Grant & Struwe 2001, 2003; Grant & Weaver 2003	Neotropics (Andes, Eastern Brazil, tepuis of the Guayana Shield, Greater Antilles of the Caribbean, and southern Mesoamerica)	Shrubs or trees, funnelshaped green to white corollas, rounded corolla lobes, pollen monads
<i>Neblinantha</i> Maguire	2	Struwe & al., 1999	Guayana Shield (tepui)	Suffrutescent herbs, small leaves, terminal flowers, pollen in tetrads
<i>Prepusa</i> Mart.	5	Calió & al., 2008	Eastern Brazil	Herbs, shrubs, trees, coriaceous leaves, 6-merous flowers, membranaceous calyx, tetrads
<i>Purdieanthus</i> Gilg	1	Maas, 1985	Colombian and Venezuelan Andes	Vine, terminal, dichasial inflorescence, long, tubular corollas
<i>Rogersonanthus</i> Maguire & Boom	3	Struwe & al., 1999	Guayana Shield (tepui), Lesser Antilles	Herbs or shrubs, corolla green or red, funnelshaped, pollen in tetrads
<i>Roraimaea</i> Struwe, S. Nilsson & V. Albert	2	Struwe & al., 2008	Northern Brazil	Herb, orange corolla, actinomorphic stamens, reticulate pollen tetrads
<i>Sentaea</i> Taub.	2	Calió & al., 2008	Eastern Brazil	Shrub, coriaceous leaves, 6-merous flowers, pollen tetrads

<i>Sipapoantha</i> Maguire & Boom	2	Struwe & al., 1999; Lepis, 2009	Guayana Shield (tepui)	Herb/shrub, coriaceous, basal leaves, large flowers
<i>Symbolanthus</i> G. Don (incl. <i>Wurdackanthus</i> Maguire)	~30	Struwe, 2003; Struwe & Gould, 2004, Molina & Struwe, 2008	Neotropics (tepui, Andes, Central America); Guadeloupe and Dominica	Herbs, shrubs, or trees, large flowers, corolla with corona at base of stamens, reticulate pollen in tetrads
<i>Tachia</i> Aubl.	13	Maguire & Weaver, 1975; Cobb & Maas, 1998; Struwe & Kinkade, in prep.	Amazonia, Guayana Shield, Panama (mainly lowland, some white-sand species)	Shrubs or small trees, axillary, sessile flowers, salvershaped corolla, pollen in monads
<i>Tetrapollinia</i> Maguire & Boom	1	Struwe & al., 1999	Eastern Brazil, Amazonia, Guayana Shield (often white-sand)	Herb, linear leaves, few flowers, terminal inflorescences, blue-white corollas, spiny polyads
<i>Yanomamua</i> J.R. Grant, Maas & Struwe	1	Grant & al., 2006	Northern Brazil	Herb, pandurate leaves, solitary flowers in upper leaf axils
<i>Zonanthus</i> Griseb.	1	Thiv, 2002	Cuba	Shrubs, interpetiolar sheath, solitary flowers in leaf axils, pollen in monads
TOTAL: 23 genera ~200–204				

flattened and twisted when drying and aging, a glandular disk or glandular area at the base of a sessile ovary, and pollen often released as tetrads or polyads and with elaborate exine sculpturing (Struwe & al., 2002; see also Gentian Research Network’s website for illustrations and information on Helieae taxonomy and morphology, <http://gentian.rutgers.edu/>).

Generic circumscriptions and relationships within Helieae are poorly known in comparison to Gentianaceae tribes Gentianeae, Potalieae, and Chironieae. The Helieae has existed in something of a taxonomic “chaos” since its description two centuries ago. Species from the Helieae described as “*Lisyanthus*”/“*Lisianthus*” by Grisebach (1839, 1845), have been confused with the Caribbean genus *Lisianthus* in tribe Potalieae (Struwe & Albert, 1998a). To deal with this potential problem of homonymous generic names, botanists in the late 1800s and 1900s either transferred these species to other genera or segregated them as new genera (Kuntze, 1891; Gilg, 1895; Maas, 1985). These conflicting views led to unstable generic circumscriptions that are still present today. Some authors favored broadly circumscribed genera such as *Helia* (Kuntze, 1891) or *Irlbachia* (Maas, 1985). Narrow circumscriptions were proposed by Gilg (1895), who segregated many of the species into palynologically distinct genera, a view that was followed by Maguire (1981, 1985), Maguire & Boom (1989), and from a phylogenetic standpoint, by Struwe and collaborators (Struwe & al. 1997, 1999, 2002; Struwe & Gould, 2004).

Phylogenetic studies of plastid *trnL* intron and *matK* DNA sequences have provided a good understanding of the phylogenetic relationships within the Gentianaceae and have formed the basis for a new tribal classification (Struwe & al., 2002). In total, there are six major clades (now recognized as tribes) in the family, including the formerly monotypic family Saccifoliaceae (Thiv & al., 1999a) and the former tribe Potalieae of the Loganiaceae. The Helieae is deeply nested inside Gentianaceae and forms a polytomy with tribes Gentianeae and Potalieae. In the current tribal classification Helieae is monophyletic; however, this has not always been the case. Genera that are now in Helieae were previously placed in tribes Helieae, Rusbyanthaeae, and Gentianeae-Tachiinae in Gilg’s (1895) classification, and Helieae sensu Gilg included parts of current Chironieae.

Global studies of Gentianaceae using the plastid *trnL* intron and *matK* have shown that more rapidly changing sequences will be necessary for understanding infra-group relationships in Helieae, which show very little resolution in trees derived from these data (Struwe & al., 2002). The utility of the internal transcribed spacer regions (ITS1, ITS2) of nuclear ribosomal DNA (rDNA) at relatively low levels in taxonomic hierarchies has been demonstrated for a number of plant groups, including Gentianaceae (e.g., Chassot & al., 2001; Mansion & Struwe, 2004; Thiv & al., 1999b; Yuan & al., 2003).

Here, we present a larger analysis including all genera of Helieae (except *Yanomamua* J.R. Grant, Maas & Struwe; Grant & al., 2006) based on additional sequencing of the nuclear ITS region, as well as a comprehensive morphological dataset. The goals of this study were: (1) to evaluate phylogenetic hypotheses and generic circumscriptions within Helieae using several types of genetic and phenotypic data; and (2) to evaluate the utility and agreement of morphological data as compared to molecular data; (3) to evaluate support for current generic circumscriptions; and (4) to identify valuable field characters for monophyletic genera and clades.

MATERIALS AND METHODS

Sampling. — All genera in Helieae were included in this study, except for *Yanomamua* (Table 1; Appendix 1). For each genus, generally all species were included if the number of species in the genus were fewer than five, and if more, a selection of species was included. Exceptions from this were *Lehmanniella*, *Prepusa*, and *Senaea*, where fewer species were included. For morphologically heterogeneous genera, a range of species was sampled to cover a variety of phenotypes. Care was taken to include species that in previous studies have been placed on basally positioned branches in smaller studies. For example, 6 of *Tachia*'s 13 species, 6 of *Macrocarpaea*'s 105+ species, and 4 of *Symbolanthus*'s ca. 30 species were included. The phylogenies of these genera have been analyzed in more restricted studies and the monophyly of each has been supported based on morphological synapomorphies as well as molecular studies (Gould & Struwe, 2004; Struwe & Gould, 2004; Grant, 2004; Struwe & Kinkade, in prep.). The recently described Brazilian genus *Yanomamua* was not included in this analysis due to lack of material (no flowers are known), but recent phylogenetic analyses suggested a position of *Yanomamua* in the *Symbolanthus* subclade (Grant & al., 2006).

A large selection of outgroup taxa was included since the sister group to Helieae is not known with certainty. Tribes Gentianeae and Potalieae form a trichotomy with Helieae in recent analyses (Struwe & al., 2002), so taxa selected from both of these tribes were sampled, as well as from the more remotely placed tribe Chironieae. Nine taxa from Gentianeae (both subtribes represented; Gentiinae, Swertiinae) and seven taxa from Potalieae (all three subtribes represented; Faroinae, Lisianthiinae, Potaliinae) were included, as well as seven taxa from Chironieae (two subtribes out of three included; Coutoubeinae, Chironiinae). It was hoped that such a wide selection of outgroup taxa should ensure an accurate estimate of the internal rooting of Helieae.

Morphological data. — Morphological characters and character states were obtained through observations of pressed and liquid-preserved plant materials during comprehensive revisions and floristic treatments over the last fifteen years, including approximately 4,000 herbarium collections from the following herbaria: AAU, AFP, ALA, ALCB, B, BHCB, BM, BP, BR, BRIT, BSB, C, CAS, CAUP, CEN, CESJ, CGMS, CHOCO, CHRB, CM, COAH, COL, CONN, COR, CR, CTES, CUVC, CUZ, CVRD, DAV, DUKE, E, EHH, ESAL, F, FAUC, FI, FLAS, FMB, FR, G, GB, GH, GOET, HAC, HAL, HAM, HAO, HB, HRB, HUA, HUCP, HUCS, HUEFS, HUFU, HUQ, HUT, HXBH, IAN, IBGE, ICN, INB, INPA, JAUM, JBSD, JE, K, L, LD, LIL, LINN, LOJA, LP, LPB, LS, M, MA, MANCH, MARY, MBM, MBML,

MEDEL, MER, MG, MICH, MIN, MO, MOL, MSB, MU, MY, NA, NEU, NO, NSW, NY, OXF, P, PH, PORT, PR, PRC, Q, QAP, QCA, QCNE, QPLS, QUSF, R, RB, RNG, S, SBBG, SEL, SJRP, SP, SPF, TEX, U, UB, UC, UCWI, UDBC, UEC, UPCB, UPS, UPTC, US, USM, VALLE, VEN, VIC, W, WAG, WIS, WU, YU, and Z. Morphological data obtained from literature were confirmed with new observations as far as possible. The following works were consulted with regard to morphological characters for Helieae (see also Table 1): Lindley, 1849; Ewan, 1947, 1948a, b, 1952; Leon & Alain, 1957; Maguire & Weaver, 1975; Maas, 1981, 1985; Maguire, 1981, 1985; Maguire & Boom, 1989; Struwe & al., 1997, 1999, 2002, 2008; Cobb & Maas, 1998; Struwe & Albert, 1998b, 2004; Grant & Struwe, 2001, 2003; Thiv, 2002; Grant, 2003, 2004, 2005, 2007; Grant & Weaver, 2003; Struwe, 2003; Gould & Struwe, 2004; Struwe & Gould, 2004; and Molina & Struwe, 2008. Unpublished theses and documents written by P.J.M. Maas, E. Groen, E.C.H. van Heusden, and J.E. Simonis were also consulted. Outgroup data were based on our own observations from the field and herbarium material as well as species descriptions from a variety of floristic works and revisions. The majority of seed and pollen data was derived from investigations presented in Bouman & al. (2002), Struwe & al. (2002), and Nilsson (1968, 1970, 2002). Seed data for *Macrocarpaea* were from Grant (2005) or unpublished by J.R. Grant, and unpublished pollen photographs from B. Maguire's investigations at The New York Botanical Garden's SEM photo collection were also consulted.

Characters (Appendix 2) were selected and states delineated based on their low polymorphism rate within taxa, apparent indifference to environmental variables (i.e., genetically based), phylogenetic utility (i.e., sufficient variation within the study group), applicability to all or most taxa, and our ability to discern distinct character states (following Hoot & al., 1994). No quantitative characters were included. Detailed investigations of herbarium sheets (gross morphology, vegetative and floral characters) as well as rehydrated or liquid-preserved flowers (flower morphology) were made for all included taxa. Characters were coded as binary or multi-state, and were treated as non-additive. If applicable, polymorphic species were coded as polymorphic regardless of the quantitative distribution of different states within each species. In total, 127 structural characters (Appendix 2) were recorded for 59 Helieae species and 23 outgroups. The data matrix is available at TREEBASE (www.treebase.com; study accession number S2329).

Evaluation of morphological characters was based on retention indices obtained for each morphological character as mapped onto single most parsimonious trees from the large and small combined analyses (see Appendix 2 for character retention indices).

Morphological characters were also mapped using Winclada with “Fast optimization” for: habit (ch. 1) and merosity of flowers (chs. 32, 44) for the small combined analysis, and pollen aggregation (ch. 89) for the large combined analysis.

Molecular methods and selection of markers. —

Sequence data were obtained from herbarium specimens or field collected material (see Appendix 1 for vouchers and GenBank numbers). Sequences for chloroplast *matK* and *trnL* intron were previously published in Struwe & al. (2002), and due to their already known limited resolving power within Helieae, no further sequencing of Helieae taxa for these regions was attempted. Available sequences of *trnL* intron and *matK* were included, nonetheless, due to their resolving power between subtribes and tribes of Gentianaceae, and to provide support for the proper rooting of Helieae.

New sequences were obtained for the nuclear internal transcribed spacer (ITS1, ITS2) for *Coutoubea spicata* and for Helieae species. Other ITS sequences were downloaded from GenBank (Appendix 1). Previously extracted DNA was used or DNA was extracted from fresh leaf material dried in silica gel or from herbarium specimens from as many Helieae genera as possible. DNA extraction from several Helieae taxa was limited or made impossible by the rarity of plant material. DNA extraction, amplification, and DNA sequencing for ITS followed the protocol of Struwe & al. (1998) with the modifications outlined in Frasier & al. (2008).

For some taxa, amplification of ITS2 was not successful despite several attempts, so only ITS1 was included in the analysis (*Adenolisianthus arboreus*, *Aripuana cullmaniorum*, *Calolisianthus pulcherrimus*, *Chelonanthus*

albus, *Irlbachia nemorosa*, *Prepusa montana*; only last part of ITS2 missing for *Tachia parviflora*; internal part of ITS missing for *Tetrapollinia caerulea*). For some ITS sequences downloaded from GenBank, 5.8S was missing between ITS1 and ITS2 (*Bartonia virginica*, *Centaurium maritimum*, *Chironia linoides*, *Crawfordia thibetica*, *Gentiana lutea*, *Gentianopsis crinita*, *Halenia palmeri*, *Ixanthus viscosus*, *Macrocarpaea angelliae*, *Obolaria virginica*, *Orphium frutescens*, *Sabatia angularis*). Since the 5.8S rRNA is nearly identical for gentians as a whole, this was not expected to affect the analyses in a negative way.

Alignments. — Obtained ITS sequences were edited using Sequencher 4.0 (GeneCodes). The DNA sequences from the *matK*, *trnL* intron, and ITS regions were aligned by eye in separate alignments using Sequencher 4.0. Alignments were exported as NEXUS-files and imported into Winclada, where insertion/deletions were coded for ITS and *trnL* intron based on the ‘simple gap coding’ method (Simmons & Ochoterena, 2000; see Appendices 3 and 4 in the online version of this article) as binary absent/present characters added to the end of each data matrix. Following this method, potentially informative insertions and deletions in the *trnL* intron and ITS matrices were coded in separate matrices using binary characters for absence or presence of gaps. Characters were optimized such that as few characters as possible were used to explain gaps, but not allowing for differences in gap length within a character. For example, the three sequences NNNNN, N--NN, and N---N, would lead to the coding of two characters, one for the nucleotide position 2–3, and one for position 4. See Table 2 for the numbers of informative characters, indel characters, and aligned sequence length. All matrices had less than 1% polymorphisms. All data matrices,

Table 2. Data matrix characteristics for the six datasets used in phylogenetic analyses.

Analysis	Dataset	Matrix characteristics						Result				
		# terminals	# char. (excl indels)	# indel char.	% informative char.	% missing data (?)	% gaps (-)	Heuristic # MP trees	Ratchet # MP trees	Steps	CI	RI
1	Chloroplast data (<i>matK</i> + <i>trnL</i> intron)	41	1,180	15	15%	23%	7%	3,352	1,295	639	0.74	0.77
2	Nuclear data (ITS)	53	676	46	48%	11%	7%	48	48	1,546	0.47	0.69
3	All DNA data (ITS, <i>matK</i> , <i>trnL</i> intron)	59	1,841	61	28%	37%	5%	2,035	86	2,198	0.54	0.70
4	Morphology	82	127	0	100%	12%	0%	24	965	717	0.23	0.69
5	Small combined	59	2,029	61	32%	35%	5%	4	4	2,837	0.48	0.68
6	Large combined	82	2,029	61	32%	52%	4%	30	30	2,979	0.46	0.69

Abbreviated column headers: number of terminals/taxa; number of characters; number of added indel characters (coded gaps); % phylogenetically informative characters. The table also includes results from the phylogenetic analyses for the simple heuristic approach and the ratchet method (number of most parsimonious trees and number of steps), and consistency (CI) and retention indices (RI).

alignments, and trees are available at TREEBASE (www.treebase.com; study accession number S2329).

Phylogenetic analysis. — Parsimony analyses were performed using NONA (Goloboff, 2002) launched through Winclada ver. 1.00.08 (Nixon, 2002). Two types of searches were employed for each data matrix. Preliminary searches showed that different but complementary sets of most-parsimonious trees were found using both the heuristics and ratchet methods with these datasets. First, a heuristics search was performed with the following settings: hold 10,000 (maximum trees), mult*200 (200 random addition replicates), hold/10 (10 starting trees per replicate), random seed = 0, search strategy multiple TBR + TBR (mult*max*) and unconstrained. Second, a parsimony ratchet analysis was performed to search for potential tree islands (Nixon, 1999) using the following settings: 10 replicates (repeating search, as multi-ratchet), 200 iterations per replicate, hold 10 trees per iteration, ambiguous collapsing option ('amb-poly=', default), 10% of the characters resampled, and random constraint level = 10. Consistency index, retention index (Farris, 1989), number of steps, and strict consensus trees were calculated using Winclada. In the trees all unsupported nodes were "hard collapsed".

Branch support was evaluated using a jackknife analysis (Farris & al., 1996) performed through Winclada with the following settings: 1,000 replicates, 10 random search replications each, one starting tree per replicate, "don't do max (TBR)", save consensus, and maxtrees = 1,000. All analyses were performed on a desktop or laptop PC computer with a Pentium 4 processor.

In total, four different data matrices (*trnL* + *trnL* indels, *matK*, ITS + ITS indels, and morphology) were run in the following six combinations: (1) *trnL* intron plus *matK* (chloroplast DNA data), (2) ITS and ITS indels (nuclear data), (3) all DNA sequence data, (4) morphological data, (5) DNA and morphological data combined for all taxa with sequence data ("small combined"), (6) all available morphology and sequence data (including several taxa without DNA data, "large combined"). Characteristics for each matrix/combination are outlined in Table 2.

Concerns about data combination because of possible heterogeneity of hierarchical information among different datasets (e.g., Bull & al., 1993; Huelsenbeck & al., 1996; Yoder & al., 2001; Ramírez, 2006) may not be alleviated using available tests since it will not necessarily be known, e.g., whether hierarchical pattern is globally incongruent or only locally so. However, following reviewers suggestions, we did employ the partition-homogeneity test (ILD test; Farris & al. 1994) as implemented in PAUP* on the following data partitions: cpDNA vs. ITS and all-DNA vs. morphology. For each ILD test, heuristic searches were employed with 1,000 random repartitions of the data and "maxtrees" set at 1,000.

RESULTS

The partition-homogeneity test for the cpDNA vs. ITS partition returned a *P* value of 0.003, and that for the all-DNA vs. morphology partition returned a *P* value of 0.001, indicating that there was significant heterogeneity between the different datasets. However, we decided to run combined analysis since it has been shown that the ILD test is problematic and only can detect incongruence to a limited degree, especially when the number of characters are low (as in the cpDNA dataset) or the substitution rate is heterogeneous (which at least can be assumed for the morphological data; Darlu & Lecointre, 2002).

The individual topological results from different datasets were largely congruent with each other and with the two combined analyses (one including all taxa and one including only the taxa with DNA data). Details regarding the different results are outlined below and in Table 2. Differences appeared in the positions of only a few taxa, and in the lack of resolution particularly in separate analyses based on only chloroplast or morphology data. Chloroplast data largely failed to provide much resolution within Helieae, but provided support for relationships for and among outgroups (tree not shown). Morphology provided substantial support for many smaller groupings, but failed to group larger clades (Fig. 1B). The strict consensus tree based on the small combined analysis was the most resolved (Fig. 2), and where most branches received substantial jackknife support (JF).

When taxa with only morphology data were added to the small combined data matrix to create a large combined matrix and to place unsequenced species and genera, the combination of data still provided a nearly completely resolved consensus tree, albeit with some internal branches not receiving jackknife support above 50% (Fig. 3).

Heuristic and ratchet analyses provided trees of the same lengths in all cases, and with identical strict consensus trees from partially different sets of trees. This indicated that topological differences between sets of tree were isolated to ambiguously or non-supported branches that collapsed in the strict consensus trees.

cpDNA (*trnL* intron plus *matK*). — Forty-one taxa were analyzed in the cpDNA matrix, including 1,165 aligned nucleotides and 15 coded indels (Table 2). Heuristic parsimony yielded 3,352 most-parsimonious (MP) trees, and subsequent use of the parsimony ratchet resulted in 1,295 trees. Little resolution was found within Helieae, which was supported as monophyletic (JF 56%; consensus tree not shown). Tribe Potalieae and Chironieae (JF 74% and 100%, respectively) were also monophyletic. Within Helieae, there was no resolution at all in the strict consensus tree.

ITS. — The ITS plus indels matrix, which had 676 aligned nucleotides and 46 coded indels, included 53 taxa

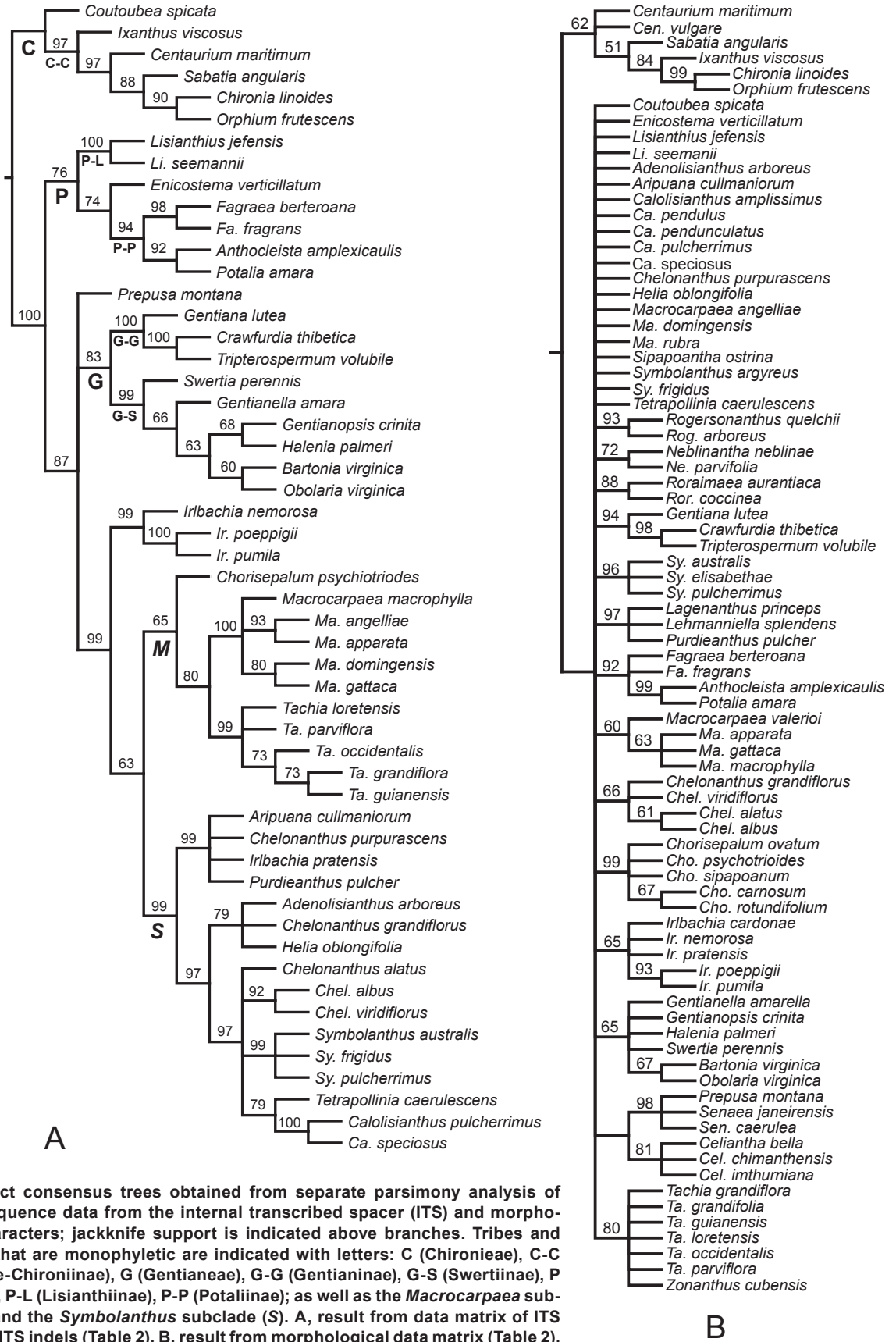


Fig. 1. Strict consensus trees obtained from separate parsimony analysis of nuclear sequence data from the internal transcribed spacer (ITS) and morphological characters; jackknife support is indicated above branches. Tribes and subtribes that are monophyletic are indicated with letters: C (Chironieae), C-C (Chironieae-Chironiinae), G (Gentianeae), G-G (Gentianinae), G-S (Swertiinae), P (Potalieae), P-L (Lisianthiinae), P-P (Potaliinae); as well as the *Macroparpaea* subclade (*M*) and the *Symbolanthus* subclade (*S*). A, result from data matrix of ITS and coded ITS indels (Table 2). B, result from morphological data matrix (Table 2).



Fig. 2. Strict consensus tree obtained from analysis of combined morphological and molecular data including all taxa that have at least some molecular data; jackknife support is indicated above branches (Table 2). Tribes and subtribes that are monophyletic are indicated with letters: C (Chironieae), C-C (Chironieae-Chironiinae), H (Helieae), G (Gentianeae), G-G (Gentianinae), G-S (Swertiinae), P (Potalieae), P-F (Faroinae), P-L (Lisianthiinae), P-P (Potaliinae); as well as the *Macrocarpaea* subclade (*M*) and the *Symbolanthus* subclade (*S*). Character 1 (habit) is mapped with black circles, showing nine derivations of a woody habit with X marking the single reversal. Type species for Helieae genera are indicated with a "T". The flower merosity of non-pentamerous flowers are indicated with number (calyx: corolla) after each taxon name.

(Table 2). Forty-eight MP trees were found using heuristic parsimony, and the parsimony ratchet also resulted in 48 MP trees. The consensus trees from the heuristic and ratchet analyses were identical, and nearly all branches present in the consensus trees received jackknife support above 70% (Fig. 1A). The monophyly of the Helieae was supported (JF 99%), with the exception of the placement of *Prepusa* in a trichotomy with Gentianeae and the rest of Helieae (JF 87%).

Within the core Helieae, *Irlbachia* (excl. *I. pratensis*; JF 99% for monophyly) was sister to the rest of the tribe, which was divided into two large subclades. *Chorisepalum*, *Macrocarpaea*, and *Tachia* formed one clade (hereafter called the *Macrocarpaea* subclade), with *Chorisepalum* sister to the other two genera. The sister group relationship of *Macrocarpaea* to *Tachia* had some branch support (JF 80%), and each of these genera were strongly supported (JF 100% and JF 99%, respectively).

The other large subclade (hereafter called the *Symbolanthus* subclade; JF 99%) contained species from the following genera: *Adenolisianthus*, *Aripuana*, *Calolisianthus*, *Chelonanthus*, *Helia*, *Irlbachia* (*pratensis*), *Purdieanthus*, *Symbolanthus*, and *Tetrapollinia*. One inner clade was composed of *Aripuana*, *Ch. purpurascens*, *I. pratensis*, and *Purdieanthus* (JF 99%). Polyphyly was evident for *Chelonanthus*, since its species were present in two inner clades. Generic monophyly was supported for *Calolisianthus* (JF 100%) and *Symbolanthus* (99%). *Tetrapollinia* was placed as the sister group to *Calolisianthus* (JF 79%).

All DNA data. — The analysis of the data matrix (including all DNA data, 1,841 characters and 59 taxa) resulted in 2,035 MP trees from the heuristic analysis, and 86 trees from the ratchet analysis. In the strict consensus tree (not shown), these clades had substantial jackknife support: tribe Chironieae (JF 100%), tribe Potalieae (JF 87%), tribe Gentianeae (JF 71%), subtribe Potalieae (JF 99%), subtribe Chironieae (100%), subtribe Gentianinae (JF 99%), and subtribe Swertiinae (JF 97%). Additional support was found for some smaller clades and genera, but most of Helieae was unresolved, but monophyletic without jackknife support over 50%.

Morphology. — The morphology matrix included the greatest number of terminals (82), with the aim of placing several taxa that could not be sequenced. In total, 127 characters were included (Appendix 2), with some missing data cells primarily due to partial lack of seed and pollen information. Characters that had data available only for some taxa were included for a preliminary evaluation of their usefulness for phylogenetic studies in Helieae.

The parsimony analyses resulted in 24 (heuristic) and 965 (ratchet) trees of 717 steps (Table 2). The consistency index was the lowest among all analyses (0.23), however, the retention index was comparable to that of the ITS plus ITS indel analysis (0.69), showing that these

morphological characters, while homoplastic, retained a similar amount of an initial similarity as synapomorphies as the ITS nucleotide data. The large number of trees was due to conflicting arrangements of smaller subclades, as seen in the largely unresolved strict consensus tree (Fig. 1B). No tribe of Gentianeae appeared as monophyletic. However, monophyletic subtribes that were recovered included Chironiinae (JF 62%), Gentianinae (JF 94%), Potaliinae (JF 92%), and Swertiinae (JF 65%). Helieae genera recovered as monophyletic were *Celiantha* (JF 81%), *Chorisepalum* (JF 99%), *Irlbachia* (JF 65%), *Neblinantha* (JF 72%), *Rogersonanthus* (in the circumscription by Struwe & al., 2008; JF 93%), and *Roraimaea* (JF 88%). The monophyly of *Lagenanthus* + *Lehmanniella* + *Purdieanthus* was also supported (JF 96%), as well as *Prepusa* + *Senaea* (JF 98%).

Small combined analysis including only taxa with DNA data. — A smaller combined data matrix was analyzed that included only taxa represented by DNA sequences (“small combined”; Table 2). It should be noted that several taxa still had missing data for some of the DNA regions in this analysis. The resulting strict consensus tree (from 4 + 4 MP trees) was nearly completely resolved and had jackknife values above 50% for nearly all nodes (Fig. 2). This result was also in concordance with the ITS analysis, with a few exceptions, and resolved several unresolved branches in that analysis (cf. Fig. 1A). Both the *Macrocarpaea* subclade (JF 76%) and *Symbolanthus* subclade were monophyletic (JF 79%). In Helieae, monophyly was found for *Calolisianthus* (JF 96%), white/green-flowered *Chelonanthus* + *Helia* + *Adenolisianthus* (JF > 50%), *Chorisepalum* (JF 97%), *Macrocarpaea* (JF > 50%), *Tachia* (JF 99%) and *Symbolanthus* (JF 99%). *Irlbachia* was supported as monophyletic (JF 99%) with the exception of *I. pratensis*, which was placed sister to *Chelonanthus purpurascens* in the *Symbolanthus* subclade (JF 51%). *Chorisepalum* was placed as sister to *Tachia* (JF 52%), and these two were in turn sister to *Macrocarpaea* (JF 76%). *Neblinantha* was positioned basal to *Irlbachia* s.str. at the base of the *Symbolanthus* clade (see Fig. 2 for further details).

Mapping of the habit character (ch. 1) for this analysis showed herbaceousness as a plesiomorphic trait within the family as well as within Helieae, and nine derivations of a woody habit (Fig. 2). Mapping of flower merosity provided evidence for an ancestral 5-merous flower in Gentianeae, Helieae, and Potalieae, with subsequent reversals to a complete 4-merous flower in some Swertiinae (with a 2-merous calyx in *Obolaria*) and *Celiantha chimantensis* (Fig. 2). Four-merous flowers are also present in the outgroup, Chironieae. Furthermore, supermerous flowers (over 5) are present in three lineages, with two of these having 4-merous calyces (*Chorisepalum* [Helieae: 6-merous corolla] and *Anthocleista* + *Potalia* [Potalieae:

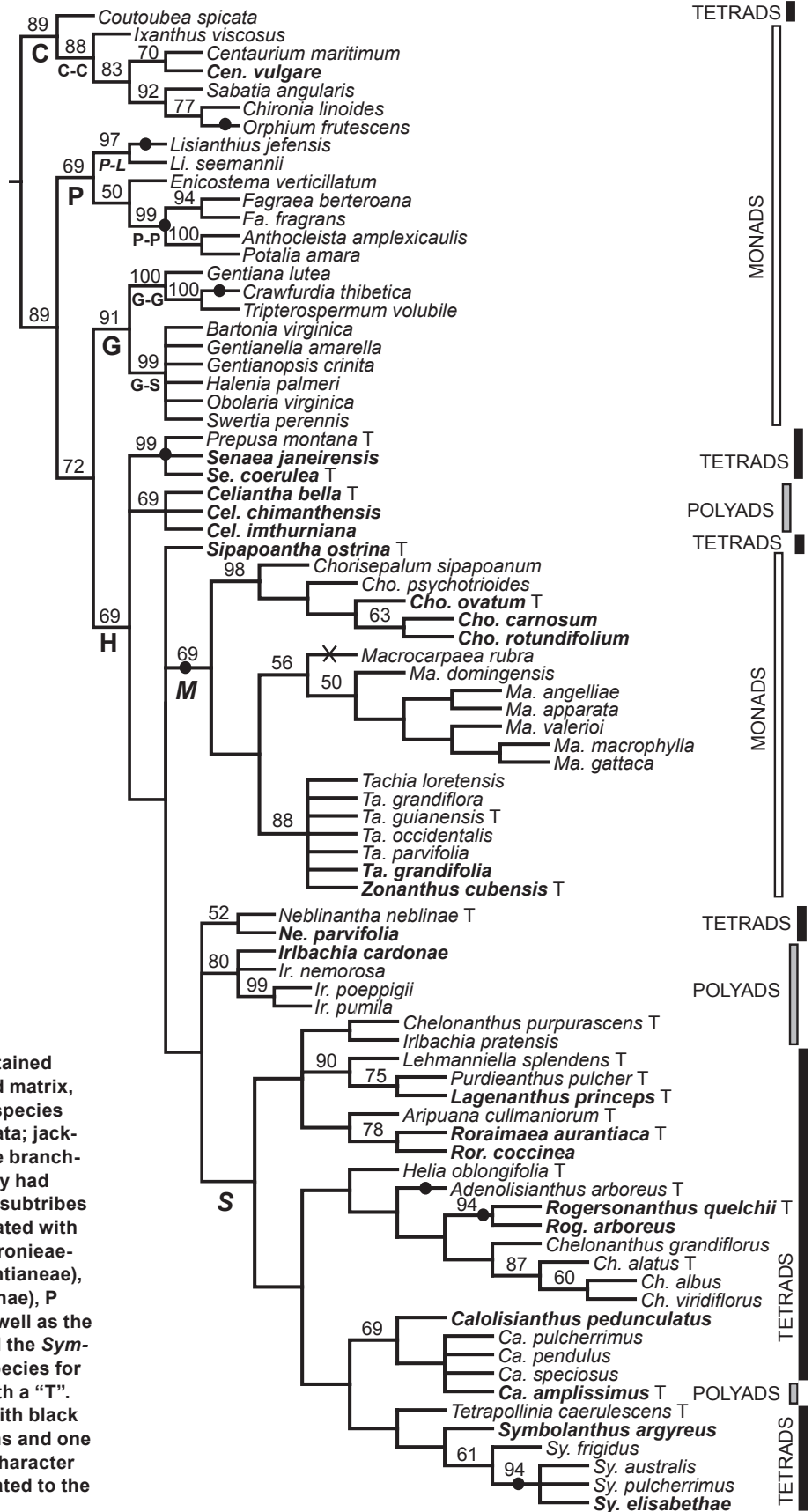


Fig. 3. Strict consensus tree obtained from analysis of large combined matrix, i.e., including all data and also species that only have morphological data; jack-knife support is indicated above branches (Table 2). Species in bold only had morphological data. Tribes and subtribes that are monophyletic are indicated with letters: C (Chironieae), C-C (Chironieae-Chironiinae), H (Helieae), G (Gentianeae), G-G (Gentianinae), G-S (Swertiinae), P (Potalieae), P-P (Potaliinae); as well as the *Macrocarpaea* subclade (M) and the *Symbolanthus* subclade (S). Type species for Helieae genera are indicated with a “T”. Character 1 (habit) is mapped with black circles, showing nine derivations and one reversal (X) of a woody habit. Character 89 (pollen aggregation) is indicated to the right for each taxon.

8–16-merous corolla]). Supermerous calyces are only known from the third lineage, the completely 6-merous *Prepusa* and *Senaea*, of the taxa included in this analysis (additional supermerous taxa excluded from this analysis includes *Blackstonia* and some *Sabatia* species).

Large combined analysis including all taxa. —

The number of terminals increased from 59 to 82 when species with only morphological data were included in the combined analysis (“large combined”; Table 2). The analysis resulted in 30 (heuristic) and 30 (ratchet) MP trees (Table 2). The strict consensus tree (Fig. 3) was highly resolved for internal branches and most genera, less so within a few genera (*Calolisianthus*, *Celiantha*, *Symbolanthus*, *Tachia*). A majority of branches received substantial jackknife support, except for several internal branches within Helieae. The *Macrocarpaea* subclade was recovered (JF 69%), as was the *Symbolanthus* subclade (JF < 50%). Rare genera without DNA data (*Celiantha*, *Lagenanthus*, *Neblinantha*, *Rogersonanthus*, *Roraimaea*, *Senaea*, *Sipapoantha*, *Zonanthus*) showed distinct placements in the strict consensus tree, but their inferred relationships received none or only low branch support, most likely due to the missing DNA data for these taxa. *Senaea* was placed with *Prepusa* (JF 99%), *Zonanthus* with *Tachia* (JF 88%), *Roraimaea* with *Aripuana* (JF < 50%), *Lagenanthus* with *Purdieanthus* (JF 75%), *Rogersonanthus* with *Adenolisianthus* + *Helia* + green/white-flowered *Chelonanthus* (JF < 50%), and *Sipapoantha* and *Celiantha* were placed on basal branches within Helieae. All species with only morphology data placed themselves within congeneric clades (e.g., species of *Calolisianthus*, *Chorisepalum*, *Irlbachia*, *Neblinantha*, and *Symbolanthus*). The found relationships were highly congruent with all previous analyses.

When habit (ch. 1) is mapped for this analysis, the number of derivations of woody habit increases to nine, with one reversal within *Macrocarpaea* (Fig. 3). Mapping of the pollen aggregation character (ch. 89) for this analysis showed monads as a plesiomorphic trait within the family, with ambiguous character state optimization at the base of the Helieae (either tetrads with a reversal to monads in the *Macrocarpaea* subclade, or 2–4 derivations of tetrads in the tribe). Within Gentianeae as a whole, there are at least two, maybe up to five, derivations of pollen tetrads and at least two derivations of pollen polyads. A summary of generic relationships found in these analyses are shown in Fig. 4, with field characters and some synapomorphies marked on branches.

DISCUSSION

Sister group to Helieae. — In previous published analyses the relationships between tribes Gentianeae, Helieae, and Potalieae have been unresolved (e.g., Struwe &

al. 2002). In our two combined analyses Gentianeae is the sister group to Helieae (JF 87% and 72%, respectively; Figs. 2, 3). A better sampling of non-Helieae taxa for the ITS data is needed to confirm this result, as is inclusion of additional DNA sequence regions.

Monophyly of Helieae. — The Helieae is among the most morphologically diverse tribes of gentians (Struwe & al., 2002). Despite the variation in flower morphology, habit, seed and pollen anatomy, the tribe is supported by several synapomorphies that are nearly uniformly present within the species of the tribe (Fig. 4): sepals with membranaceous margins (ch. 38); a flat, twisted style persistent in fruits and old flowers (character 77); nodding fruits (ch. 81), pollen in tetrads (ch. 89); and rimmed seeds (ch. 110) with testa cells with band-like thickenings (ch. 115). In addition, several plesiomorphic traits such as a nectary disk at the base of the ovary (ch. 73) and inrolled placentas (ch. 88) are important field characters for Helieae. In Gilg’s (1895) classification, mostly based on a few pollen characters, the Helieae genera were classified in three different groups (Gentianeae-Tachiinae [monads], Helieae [polyads and tetrads], and Rusbyanthae [tetrads]), none of which are supported as monophyletic by the present results. Helieae are clearly monophyletic in our analyses, with two distinct subclades and a few genera with less certain placement (*Celiantha*, *Irlbachia*, *Neblinantha*, *Sipapoantha*; cf. Fig. 4).

Phylogenetic history of Helieae. — Three genera are consistently placed as the sister taxa to the rest of the tribe: *Prepusa*, *Senaea*, and *Celiantha* (Fig. 4). In the rest of the Helieae, two major evolutionary lineages appear to be present: the *Macrocarpaea* subclade and the *Symbolanthus* subclade, as well as a few smaller clades with more uncertain positions.

Celiantha, *Prepusa*, and *Senaea* are rare and endangered genera from the eastern Brazilian Highlands and the Venezuelan tepuis, which have not been previously included in any phylogenetic analyses, but they were tentatively included in Helieae in the Struwe & al.’s (2002) Gentianeae classification. Neither *Celiantha* nor *Senaea* has yet been successfully sequenced, so their position in this analysis is based on optimization of morphological characters onto a backbone of combined data (Fig. 3). Their more basal position in the tribe is supported by plesiomorphic character states such as the presence of membranaceous calyces (ch. 43), persistent corollas (ch. 54), and an actinomorphic androecium (ch. 62).

Prepusa and *Senaea* lack some of the typical characters of the Helieae (such as glandular, thickened calyx lobes, chs. 37 and 43), and have unique 6-merous flowers (ch. 44), the *Prepusa* pollen type (Nilsson, 2002), and inflated calyces (Calió & al., 2008). *Celiantha* has the typical Helieae flower bauplan (except for non-glandular calyx lobes) and medially dehiscent fruits, but shares the

synapomorphies of porate pollen (ch. 90) and nodding fruits (ch. 81) with *Prepusa* and *Senaea* (both character states are homoplasious and also occur in the *Symbolanthus* subclade). It is clear that the best classification of these three genera is in Helieae (Figs. 2, 3), particularly since the monophyly of the other three tribes (Chironieae, Gentianeae, Potalieae) are strongly supported and therefore not in question. However, since this result is based only on ITS for *Prepusa*, *matK* for *Neblinantha*, and morphology for all three genera, further confirmation with additional molecular data is needed. We see no need to segregate this subclade as its own tribe, especially since it shares some, if not all, Helieae synapomorphies, and since the exact position of *Celiantha* is not known. If Helieae is eventually divided into subtribes, then the *Prepusa* subclade might form a new subtribe.

Sipapantha, a monotypic genus of blue-flowered herbs from the tepuis, was placed one step up towards Helieae from the *Prepusa* subclade (Fig. 3), and positioned without DNA sequence data. We consider this position tentative, pending sequencing of this rare taxon. *Sipapantha* shares some pollen character states with the *Prepusa* group, for example scabrate/verrucose pollen exine (ch. 107), muri as small pila (ch. 103), and pores with a thin margin (ch. 96).

The **Macrocarpaea subclade**, which is characterized by being woody plants with pollen shed as single, usually reticulate pollen grains (chs. 89, 107), contains, by far, the largest genus in the tribe, *Macrocarpaea* (ca. 105 species), together with *Chorisepalum*, *Tachia*, and *Zonanthus* (Fig. 4). *Chorisepalum* is endemic to tepuis of the Guayana Shield, and is sister to *Tachia* + *Zonanthus*. Both *Chorisepalum* and *Tachia* have strong generic morphological synapomorphies, such as 6-merous corollas (ch. 44) and 4-merous calyces (ch. 32) for *Chorisepalum*, and sessile, axillary flowers for *Tachia* (ch. 25), and a joint synapomorphy of resin present at the nodes (ch. 5; also present in *Potalia*, Potalieae; Struwe & Albert, 2004). This is the first time the monotypic and poorly known Cuban genus *Zonanthus* has been included in a phylogenetic analysis, and its position as the sister group to South and Central American *Tachia* (Fig. 3) is supported by the strong synapomorphy of having axillary, single flowers (chs. 24, 26). *Zonanthus* was tentatively placed in the Helieae in the classification of Struwe & al. (2002). If this subclade was to be classified as a subtribe, it would receive the already available name Tachiinae but in a more narrow circumscription than Gilg's (1895), which included nine genera now placed in four different tribes.

The monophyly of *Macrocarpaea* was not strongly supported in the combined analysis, most likely due to a weak placement of the floral morphologically aberrant species *M. rubra* (sometimes segregated into its own subgenus *Paranagenes*; Ewan 1948a; Figs. 1B, 2, 3). In

particular, *M. rubra* is the only species sampled from southeastern Brazil, and the other species in this area are morphologically more similar to the Andean and tepui species in the genus, and could possibly provide phylogenetic 'links' that would strengthen the monophyly of the genus for the morphological data. The weak placement of *M. rubra* might also be the result of the absence of ITS data for this species, and that some of its morphological traits are dissimilar to the rest of *Macrocarpaea* (such as flattened and winged filaments, straight anthers, and anticlinal testa cell walls with anticlinal band-like thickenings). *Macrocarpaea* is monophyletic in other more comprehensive analyses of the genus (Grant, 2007).

Irlbachia, the sole member of the *Irlbachia* subclade sensu Struwe & al. (2002), is an herbaceous genus of many white-sand and tepui species with unique pollen in spiny polyads (Struwe & al., 1997). *Irlbachia pratensis*, with a different pollen type (*Chelonanthus*-type) than the rest of *Irlbachia*, is placed outside of *Irlbachia* in the *Symbolanthus* subclade, rendering *Irlbachia* polyphyletic.

Neblinantha, a poorly known and unsequenced tepui genus of two herbaceous species, appears to be closely related to *Irlbachia* s.str. and/or the *Symbolanthus* subclades. Additional sequence data are needed to fully understand the relationships among these deeply nested lineages. Indeed, the positions of *Celiantha*, *Neblinantha*, and *Sipapantha* should all be viewed with caution.

The **Symbolanthus subclade** contains an assortment of herbaceous or woody genera, all with pollen in tetrads or polyads, and often with large, colorful corollas and zygomorphic stamens with curved anthers. The only primarily woody genera in this subclade are *Aripuana*, *Rogersonanthus*, and *Symbolanthus*, and three small genera that are straggling shrubs or vines (*Lagenanthus*, *Lehmanniella*, *Purdieanthus*). The *Symbolanthus* subclade divides into two groups, but without strong branch support (Figs. 2, 3).

The grouping of the morphologically diverse genera in the clade consisting of *Aripuana*, *Lagenanthus*, *Lehmanniella*, *Purdieanthus*, and *Roraimaea*, together with *Chelonanthus purpurascens* and *Irlbachia pratensis*, has consistently been found as a monophyletic group, but is not supported by any unambiguous, non-homoplastic morphological characters (Fig. 4). *Roraimaea coccineus*, was placed in *Rogersonanthus* when described (Struwe & Albert, 1998b), but groups with *Roraimaea aurantiaca*, a recently described taxon and it was recently included in this genus (Struwe & al., 2008). *Roraimaea coccineus* shares linear stigma lobes, a herbaceous habit, leaf-like bracteoles, pollen type, and a red-orange corolla with *R. aurantiaca*. The sister relationship between *Roraimaea* and *Aripuana* has not been proposed previously, and is supported by several strong morphological synapomorphies such as actinomorphic stamens of equal length and straight anthers (chs. 61, 62,

69), actinomorphic styles (ch. 78), erect fruits with apical dehiscence (chs. 81, 82), and leaves with many pairs of straight secondary veins (chs. 20, 22, in *Aripuana* and *R. aurantiaca* only; Fig. 4).

The strongly supported relationship found between *Lagenanthus*, *Lehmanniella*, and *Purdieanthus* was suggested already by Simonis in Maas (1985) based on floral morphology, who included all species in a larger *Lehmanniella* (Fig. 4). In the circumscription followed here, *Lagenanthus* and *Purdieanthus* are monotypic, whereas *Lehmanniella* has two species, of which only one was included. Therefore, it remains to be seen if *Lehmanniella* is monophyletic, or if the generic concepts need to be changed in this group. Common characters for all three genera are nodding, red, and tubular to narrowly salver-shaped corollas constrained at the mouth and with a papillose surface (and most likely hummingbird-pollinated; chs. 31, 45, 47, 49).

Irlbachia pratensis and *Chelonanthus purpurascens* are two species that are untypical in their respective genera in morphological terms, and their phylogenetic placement here renders both genera polyphyletic. Perhaps unfortunately, *C. purpurascens* is the type species (as the synonym *C. uliginosus*) for *Chelonanthus*, so this generic name must follow this species. A close relationship between *Irlbachia pratensis* and *Chelonanthus purpurascens* has been suggested in the past based on their unique pollen polyads with loop-like exine extensions (chs. 89, 92; Fig. 4), sometimes as spines in *I. pratensis* (Nilsson, 2002). Also, both taxa have blue or purple corollas (ch. 45), in contrast to all other currently recognized *Chelonanthus* species. Their distribution is overlapping, with *C. purpurascens* being widespread in Amazonia and outlying areas, and *I. pratensis* being endemic to white-sand areas in the Upper Rio Negro region (Struwe & al., 1999). Future reclassifications should probably include *Irlbachia pratensis* inside a smaller, recircumscribed *Chelonanthus*.

The majority of species in the *Symbolanthus* subclade are placed in a clade dominated by the genera *Calolisi-anthus*, *Chelonanthus*, and *Symbolanthus*. Also included are species from *Adenolisi-anthus*, *Helia*, *Rogersonanthus*, and *Tetrapollinia*. This is a diverse group, and the combined analysis (Figs. 2, 3) shows it divided into two clades that follow corolla color and bud apex shape: one green/white-colored clade with round apices (*Adenolisi-anthus*, *Chelonanthus* p.p., *Helia*, *Rogersonanthus* p.p.), and another blue-purple-pink-red-colored clade with tapering, sharp corolla apices (*Calolisi-anthus*, *Symbolanthus*, and *Tetrapollinia*, the only exception being *S. frigidus*; chs. 45, 56).

Basally placed in the green/white *Chelonanthus* and *Rogersonanthus* clade are *Helia* and *Adenolisi-anthus*, all with strongly similar pollen and green-white corollas.

Since the type species of *Chelonanthus* is placed outside of this clade, the green-white *Chelonanthus* species need to be renamed and the generic circumscriptions changed. Several options are possible, depending on the suitability of either recognizing one or several genera in this group. In Kuntze's (1891) classification, most of these species were included in *Helia* together with species of many other Helieae genera. *Helia*, providing the oldest generic name (Martius, 1826–27), is a southeastern Brazilian genus of 2, 3 species and primarily differs from the others in having leaves in basal rosettes, and narrow corolla tubes. *Adenolisi-anthus* is a suffrutescent genus from lowland Amazonian white sand areas (Struwe & al., 1999), differing only from *Chelonanthus* in its obovate leaves, a leaf shape that also is present in *Rogersonanthus*. The nesting of *Rogersonanthus* inside white- to green-flowered *Chelonanthus* is also not surprising, since the two original *Rogersonanthus* species (*R. arborescens*, *R. quelchii*) are primarily only differentiated from *Chelonanthus* based on their woody habit, and have green-yellow corollas as well. The pollen tetrads of *Rogersonanthus* are nearly indistinguishable from *Chelonanthus* (Nilsson, 2002), and both groups have horizontal corollas with a 'hump' on their adaxial side (ch. 48).

The flower morphology and pollen anatomy of *Adenolisi-anthus*, *Chelonanthus* p.p., *Helia*, and *Rogersonanthus* are very similar, and we suggest that these species should eventually be included in a broadly recircumscribed *Helia*, similar to the circumscription proposed by Kuntze (1891). The number of species in such a *Helia* s.l. is uncertain, since the widespread, polymorphic, and weedy taxon *Chelonanthus alatus* has functioned as a 'lumping taxon' for over a handful poorly known and morphologically similar species. The green/white *Chelonanthus alatus* group is currently being revised and is estimated to contain at least eleven species (Lepis & al., 2006).

Morphological character analysis. — Generic classifications in the Helieae have historically been difficult and a variety of key characters have been used. In the classifications of Gilg (1895), Maguire (1981), and Maguire & Boom (1989), pollen characters such as aggregation and exine sculpturing were used for generic circumscription and identification, together with floral morphology. This study evaluated these traditional characters in a phylogenetic context, as well as many other additional characters that previously had not been considered at all or had been considered as too homoplastic to identify and circumscribe genera. Some of these performed extremely well in our analyses, whereas others did not (see Appendix 2; Fig. 4). When morphological characters are compared overall to molecular data, they only perform slightly worse than molecular data as measured by the retention index.

Field characters. In recent classifications, several key morphological characters have been used at the generic level, and these were also evaluated. Many of these characters show homoplasy in our results, but still function as good synapomorphies inside particular clades/groups, and when used in combination with other characters, also perform as good genus-level key characters. Some examples are leaf-like bracts (ch. 29), found separately in *Macrocarpaea*, *Zonanthus*, *Irlbachia*, and *Roraimaea*. These are four groups that are not placed closely together, and that can be further separated based on other key field characteristics. Other characters that show great promise and show no or low homoplasy (but high retention indices) within Helieae are resin at nodes (ch. 5), vagination of petioles (ch. 19; inside *Macrocarpaea*), thickened leaf margins and decussate sepals (chs. 16 and 34; *Chorisepalum*), inflorescence type (ch. 25), and coronas (ch. 65; inside *Symbolanthus*). Of the characters used as key field characters for Helieae, calyx lobes dorsally thickened and with a glandular area (chs. 35 and 37) and a style in fruit or old flowers that is thin, long and twisted (ch. 76) had high retention indices.

There are also morphological characters that show a high degree of homoplasy inside Helieae, and that are not recommended for use in further classification and phylogenetic reconstructions, such as leaves in basal rosette (ch. 7), recurved leaf margins (ch. 17), calyx color (ch. 33), and keeled sepals (ch. 36).

The behavior of all characters is dependent on the sampling of taxa and the influence of other datasets on the combined analysis, and some caveats to these conclusions are in order. When retention indices for individual morphological characters from the large and small combined results are compared, some characters shift from high to low retention indices and vice versa, based on the sampling (Appendix 2). Therefore, the behavior of a morphological character in an analysis that does not include all species should not be predictive of the behavior of the same character in a more taxon-complete analysis. Inclusion of as many species as possible is always advisable when evaluating patterns of morphological evolution. In our discussion below we therefore base our conclusions on the large combined analysis, even if jackknife support is lower for individual branches due to the lack of molecular data for several terminals.

Pollen. It is remarkable that despite the confusing nomenclature that this tribe has suffered from, the current generic classification of Struwe & al. (2002) has identified genera that are monophyletic here, with a few exceptions. *Chelonanthus* and *Irlbachia*'s possible polyphyletic status was already noted in the works by Nilsson (1968, 1970, 2002) based on the divergent pollen morphology in these genera. When the pollen types identified by Nilsson are broken down into individual characters for specific

exine features (chs. 89–108), they provide significant and supporting information for evolutionary divergences. Of the pollen characters that performed best within Helieae are pollen in tetrads or polyads (ch. 89; supporting the *Symbolanthus* subclade + *Irlbachia* + *Neblinantha*), polar areas with thicker exine (ch. 94; supporting three different subgroups inside the *Symbolanthus* clade and *Irlbachia* s.str.), smooth or granular lumina (ch. 98; dividing the *Macrocarpaea* and *Symbolanthus* subclades), and larger meshes in equatorial vs. polar areas (ch. 106; the *Symbolanthus* clade; Appendix 2).

Seed anatomy. Fewer taxa have been investigated for seed anatomy than for pollen, so the inclusion of seed data in this study was largely an exploratory effort considering the substantial amount of missing data for some taxa. Furthermore, some characters can only be evaluated in SEMs of seeds where the outer testa wall has been removed. Also, characters were not based on types (e.g., *Symbolanthus* type of pollen), but were broken down into as many detailed, independent characters as possible (chs. 109–127). The seed characters that show promise include rimmed seeds with band-like thickenings (possible synapomorphies for Helieae, chs. 110 and 115) and a single wing around the seeds (ch. 111, state 1, a synapomorphy for *Chorisepalum*). On the other hand, testa cell shape (ch. 113), presence of sunken anti-clinal boundaries (ch. 118), and band-like thickenings on anticlinal walls (ch. 119) showed great of homoplasy (Appendix 2).

In summary, it appears that pollen and seed anatomy data behave like most gross morphological data—there are some that are very homoplastic, and some with very little homoplasy that provide good synapomorphies and/or key characters in combination with other data—which ones these are largely depends on the taxonomic group under investigation. The preferred means to uncover which characters are of the most value for a phylogenetic taxonomy is through a combined analysis including as much character data as possible.

Evolution of a woody habit. — Woodiness is a character that is infrequently present in the Gentianaceae, with the subtribe Potalieae and some genera in Helieae being the most well-known examples. It is also present in *Saccifolium* (Saccifolieae), *Lisianthus* (Potalieae), and *Orphium* (Chironieae), and it is generally thought that most woody species have evolved from herbaceous or suffrutescent herbs based on their wood anatomy (Thiv & al., 1999b; Carlquist & Grant, 2005). This view is also supported in the present analysis, where woodiness appears to have evolved at least nine times among four tribes (ch. 1; Figs. 2, 3). It appears that every time woodiness has evolved in Gentianaceae, the lineage stays woody with no subsequent evolutionary reversals back to an herbaceous habit. Perennial versus annual habits were not analyzed in this paper, but it would be interesting to analyze the connection

between these two traits. A perennial herbaceous habit presumably should be a precursor for woodiness, and anecdotal evidence is that most herbaceous species are perennial, and sometimes woody at the base, if only short-lived. Species numbers might also increase with the evolution of a shrub- or tree-habit due to longer generations and more stationarity, as seen in *Fagraea*, *Macrocarpaea*, and *Symbolanthus*—all of which also grow in areas that might have undergone large allopatric speciation. *Macrocarpaea* and *Symbolanthus* are particularly species-rich in the Andes, whereas Australasian *Fagraea* species are often restricted to particular islands or mountain areas in Asia (Leenhouts, 1963; Wong & Sugau, 1996).

Evolution of supermerous flowers. — The evolution of supermerous flowers in Potalieae, the tribe that has the largest variation in flower merosity (3 to 24 corolla lobes), was discussed by Struwe & al. (2002: 211). In all gentians that have supermerous flowers, the gynoecium is still bicarpellate in contrast to many super-merous Rubiaceae, e.g., *Gardenia* (Smith, 1974). In the Helieae, most flowers are either 4- or 5-merous, with three exceptions; *Prepusa* and *Senaea* both have 6-merous calyces, corollas, and androecium, in contrast to *Chorisepalum* which is also 6-merous in its corolla and stamens, but with a 4-merous calyx (Fig. 2). *Chorisepalum* calyx lobes are furthermore free and decussate, a condition otherwise only found in supermerous *Anthocleista* and *Potalia* (Potalieae; Struwe & Albert, 2004). As this is also the case with *Anthocleista* and *Potalia*, the sister group is completely 5-merous, so an evolutionary shift in both calyx and corolla merosity has occurred at least three times independently (Fig. 2). In all these species, the number of stamens is the same as the corolla lobes, so it could be possible that a single gene mutation is affecting merosity. Such a change between tetra- and pentamerous flowers of *Arabidopsis* has been shown to be caused by a mutation in the *PERIANTHIA* gene (Chuang & al., 1999). A further mutation causing supernumerary floral organs has been shown to occur in the *ULTRAPETALA* locus (Fletcher, 2001).

Comparison of different datasets. — In contrast to the *trnL* intron and *matK* data, ITS is highly divergent and informative for the Helieae, similar to findings in the gentian tribes Chironieae (Thiv & al. 1999b; Mansion & Struwe, 2004) and Gentianeae (Chassot & al., 2001). Chloroplast DNA sequences provide some, but insufficient, resolution of relationships within Helieae, and rarely these relationships are contradicted by ITS and morphological data, e.g., the position of *Aripuana* and *Tetrapollinia* with *Tachia* in the *trnL* intron analysis, which is supported by a *trnL* indel character (results not shown). However, such cases are likely due to the limited number of character changes in the chloroplast datasets, as shown by the few branches that are resolved and have strong branch support in the chloroplast consensus tree.

SUMMARY

This paper presents the first large-scale phylogenetic analysis of the neotropical tribe Helieae of the Gentianeaceae. Based on combined molecular, morphological, and anatomical data, strong support has been found for both the monophyly of the tribe as well as subdivisions within Helieae, such as the monophyly of several genera and the two major subclades. A few genera (*Chelonanthus*, *Irlbachia*) were found to be paraphyletic, and reclassification of some taxa in these groups is needed. A woody habit and supermerous flowers have evolved several times independently in the family, and the combination of detailed morphological data and DNA sequences proved significant in resolving the evolutionary history of tribe Helieae.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by grants from the National Science Foundation (#317612 to LS), Rutgers Research Council (to LS), Hatch-USDA grant (to LS), and Rutgers Research Council (to LS). Initial parts of this research were performed at The Cullman Program for Molecular Systematics Studies at The New York Botanical Garden, which also provided some seed funding. MFC was funded by FAPESP (Ph.D. fellowship 03/10918-3) and by IAPT Research Grant Program (2006). We thank all herbaria and their staff mentioned under Materials and Methods for access to material and information. We also wish to thank colleagues that have provided research material for this study (Paul Berry, James Luteyn, Paul J.M. Maas, Scott Mori), as well as Paul J.M. Maas, E. Groen, E.C.H. van Heusden, and J.E. Simonis, who provided access to unpublished manuscripts.

LITERATURE CITED

- Bouman, F., Cobb, L., Devente, N., Goethals, V., Maas, P.J.M. & Smets, E. 2002. The seeds of Gentianeaceae. Pp. 498–572 in: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianeaceae – Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bull, J.J., Huelsenbeck, J.P., Cunningham, C.W., Swofford, D.L. & Waddell, P.J. 1993. Partitioning and combining data in phylogenetic analysis. *Syst. Biol.* 42: 384–397.
- Calíó, M.F., Pirani, J.R. & Struwe, L. 2008. Morphology-based phylogeny and revision of *Prepusa* and *Senaea* (Gentianeaceae – Helieae)—rare endemics from eastern Brazil. *Kew Bull.* 63: 169–191.
- Carlquist, S. & Grant, J.R. 2005. Wood anatomy of Gentianeaceae, tribe Helieae: diversification in relation to ecology, habit, and systematics; the effect of sample diameter. *Brittonia* 57: 276–291.
- Chassot, P., Nemomissa, S., Yuan, Y.-M. & Küpfer, P. 2001. High paraphyly of *Swertia* L. (Gentianeaceae) in the

- Gentianella*-lineage as revealed by nuclear and chloroplast DNA sequence variation. *Pl. Syst. Evol.* 229: 1–21.
- Chuang, C.-F., Running, M.P., Williams, R.W. & Meyerowitz, E.M.** 1999. The *PERIANTHIA* gene encodes a bZIP protein involved in the determination of floral organ number in *Arabidopsis thaliana*. *Genes Developm.* 13: 334–344.
- Cobb, L. & Maas, P.J.M.** 1998. A new species of *Tachia* (Gentianaceae) from Suriname. *Brittonia* 50: 11–18.
- Darlu, P. & Lecointre, G.** 2002. When does the Incongruence Length Difference test fail? *Molec. Biol. Evol.* 19: 432–437.
- Ewan, J.** 1947. A revision of *Chorisepalum*, an endemic genus of Venezuelan Gentianaceae. *J. Wash. Acad. Sci.* 37: 392–396.
- Ewan, J.** 1948a. A revision of *Macrocarpaea*, a neotropical genus of shrubby gentians. *Contr. U.S. Natl. Herb.* 29: 209–250.
- Ewan, J.** 1948b. A review of *Purdieanthus* and *Lehmanniella*, two endemic Colombian genera of Gentianaceae, and biographical notes on Purdie and Lehmann. *Caldasia* 5: 85–98.
- Ewan, J.** 1952. A review of the neotropical lisianthoid genus *Lagenanthus* (Gentianaceae). *Mutisia* 4: 1–5.
- Farris, J.S.** 1989. The retention index and the rescaled consistency index. *Cladistics* 5: 417–419.
- Farris, J.S., Albert, V.A., Källersjö, M., Lipscomb, D. & Kluge, A.G.** 1996. Parsimony jackknifing outperforms neighbor-joining. *Cladistics* 12: 99–124.
- Farris, J.S., Källersjö, M., Kluge, A.G. & Bult, C.** 1994. Testing significance of incongruences. *Cladistics* 10: 315–319.
- Fletcher, J.** 2001. The *ULTRAPETALA* gene controls shoot and floral meristem size in *Arabidopsis*. *Development* 128: 1323–1333.
- Frasier, C., Albert, V.A. & Struwe, L.** 2008. Amazonian lowland, white sand areas as ancestral regions for South American biodiversity: biogeographic and phylogenetic patterns in *Potalia* (Gentianaceae). *Org. Div. Evol.* 8: 44–57.
- Gilg, E.** 1895. Gentianaceae. Pp. 50–108 in: Engler, A. & Prantl, K. (eds.), *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, vol. 4. Engelmann, Leipzig.
- Goloboff, P.** 2002. NONA, vers. 2.0. <http://www.cladistics.com/aboutNona.thm>.
- Gould, K.R. & Struwe, L.** 2004. Phylogeny and evolution of *Symbolanthus* and *Wurdackanthus* (Gentianaceae-Helieae) in the Guayana Highlands and Andes, based on ribosomal 5S-NTS sequences. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 91: 438–446.
- Grant, J.R.** 2003. De Macrocarpaeae Grisebach (ex Gentianaceis) specibus novis II: typification of the Ruiz & Pavon names. *Harvard Pap. Bot.* 7: 423–436.
- Grant, J.R.** 2004. De Macrocarpaeae Grisebach (ex Gentianaceis) specibus novis V: twenty-three new species largely from Peru, and typification of all species in the genus. *Harvard Pap. Bot.* 9: 11–49.
- Grant, J.R.** 2005. De Macrocarpaeae Grisebach (ex Gentianaceis) specibus novis VI: seed morphology, palynology, an infrageneric classification, and another twenty-three new species, largely from Colombia. *Harvard Pap. Bot.* 9: 305–342.
- Grant, J.R.** 2007. De Macrocarpaeae Grisebach (ex Gentianaceis) specibus novis VII: four new species and two natural hybrids. *Harvard Pap. Bot.* 11: 129–139.
- Grant, J.R.** 2008. De Macrocarpaeae Grisebach (ex Gentianaceis) specibus novis VIII: two new species from Ecuador. *Harvard Pap. Bot.* 13: 253–259.
- Grant, J.R., Maas, P.J.M. & Struwe, L.** 2006. *Yanomamua araca* (Gentianaceae: Helieae), a new genus and species from outliers of the Guayana Shield on Serra Aracá in Amazonian Brazil. *Harvard Pap. Bot.* 11: 33–41.
- Grant, J.R. & Struwe, L.** 2001. De Macrocarpaeae Grisebach (ex Gentianaceis) specibus novis I: an introduction to the genus *Macrocarpaea* and three new species from Colombia, Ecuador, and Guyana. *Harvard Pap. Bot.* 5: 489–498.
- Grant, J.R. & Struwe, L.** 2003. De Macrocarpaeae Grisebach (ex Gentianaceis) specibus novis III: six new species of moon-gentians (*Macrocarpaea*, Gentianaceae: Helieae) from Parque Nacional Podocarpus, Ecuador. *Harvard Pap. Bot.* 8: 61–81.
- Grant, J.R. & Weaver, R.E.** 2003. De Macrocarpaeae Grisebach (ex Gentianaceis) specibus novis IV: twelve new species of *Macrocarpaea* (Gentianaceae: Helieae) from Central and South America, and the first report of the presence of a stipule in the family. *Harvard Pap. Bot.* 8: 83–109.
- Grisebach, A.H.R.** 1839 [1838]. *Genera et Species Gentianearum*. J.G. Cotta, Stuttgart & Tübingen.
- Grisebach, A.H.R.** 1845. Gentianaceae. Pp. 39–141 in: Candolle, A. de (ed.), *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis*, vol. 9. Fortin, Masson, et Sociorum, Paris.
- Hoot, S.B., Reznicek, A.A. & Palmer, J.D.** 1994. Phylogenetic relationships in *Anemone* (Ranunculaceae) based on morphology and chloroplast DNA. *Syst. Bot.* 19: 169–200.
- Huelsenbeck, J.P., Bull, J.J. & Cunningham, C.W.** 1996. Combining data in phylogenetic analysis. *Trends Ecol. Evol.* 11: 152–158.
- Jensen, S.R. & Schripsema, J.** 2002. Chemotaxonomy and pharmacology of Gentianaceae. Pp. 573–632 in: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae – Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Kuntze, C.E.O.** 1891. *Revisio Generum Plantarum*, vol. 2. Arthur Felix, Leipzig.
- Leenhouts, P.W.** 1963. Loganiaceae. Pp. 293–387 in: Van Steenis, C.G.G.J. (ed.), *Flora Malesiana*, vol. 1 (6). Wolters-Noordhoff, Groningen.
- Leon, H. & Alain, H.** 1957. Gentianaceae. Pp. 158–168 in: Leon, H. & Alain, H. (eds.), *Flora de Cuba*, vol. 4. Contribuciones Ocasionales del Museo de Historia Natural del Colegio “De la Salle”, no. 16. P. Fernandez, Habana.
- Lepis, K.B.** 2009. *Evolution and Systematics of Chelonanthus* (Gentianaceae). Ph.D. dissertation, Rutgers University, New Brunswick.
- Lepis, K.B., Kulakowski, D. & Struwe, L.** 2006. A new taxonomic classification for *Chelonanthus* (Gentianaceae) as supported by ribosomal nuclear, chloroplast and morphological data. Botany 2006 conference, Chico, CA, 28 July–3 Aug, 2006. <http://www.2006.botanyconference.org/engine/search/index.php?func=detail&aid=523>.
- Lindley, J.** 1849. Memoranda concerning some new plants recently introduced into gardens otherwise than through the Horticultural Society, no 1. *J. Hort. Soc. London* 4: 261–269.
- Maas, P.J.M.** 1981. On the true identity of *Lagenanthus parviflorus* Ewan (Gentianaceae). *Ann. Missouri Bot. Gard.* 68: 685–686.
- Maas, P.J.M.** 1985. Nomenclatural notes on neotropical

- Lisyantheae (Gentianaceae). *Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch., Ser. C, Biol. Med. Sci.* 88: 405–412.
- Maguire, B.** 1981. Gentianaceae. Pp. 330–388 in: Maguire, B. & collaborators (eds.), *The Botany of the Guayana Highland—Part XI*. Memoirs of the New York Botanical Garden 32. The New York Botanical Garden, Bronx.
- Maguire, B.** 1985. Gentianaceae – part 2. *Phytologia* 57: 311–312.
- Maguire, B. & Boom, B.M.** 1989. Gentianaceae—Part 3. Pp. 2–56 in: Maguire, B. & collaborators (eds.), *The Botany of the Guyanan Highlands—Part XIII*. Memoirs of the New York Botanical Garden 51. The New York Botanical Garden, Bronx.
- Maguire, B. & Weaver, R.E.** 1975. The neotropical genus *Tachia* (Gentianaceae). *J. Arnold Arbor.* 56: 103–125.
- Mansion, G. & Struwe, L.** 2004. Molecular phylogeny of the subtribe Chironiinae: evidences for a polyphyletic genus *Centaurium* Hill (Gentianaceae). *Molec. Phylog. Evol.* 32: 951–957.
- Martius, C.F.P. von.** 1826–27. *Nova Genera et Species Plantarum quas in Itinere per Brasiliam*, vol. 2. V. Wolf, München.
- Molina, J. & Struwe, L.** 2008. Revision of ring-gentians (*Symbolanthus*, Gentianaceae) from Bolivia, Ecuador and Peru, with a first assessment of conservation status. *Syst. Biodiv.* 6: 477–501.
- Nilsson, S.** 1968. Pollen morphology in the genus *Macrocarpaea* (Gentianaceae) and its taxonomical significance. *Svensk Bot. Tidskr.* 62: 338–364.
- Nilsson, S.** 1970. Pollen morphological contributions to the taxonomy of *Lisianthus* L. s. lat. (Gentianaceae). *Svensk Bot. Tidskr.* 64: 1–43.
- Nilsson, S.** 2002. Gentianaceae – a review of palynology. Pp. 377–497 in: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae – systematics and natural history*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Nixon, K.** 1999. The parsimony ratchet, a new method for rapid parsimony analysis. *Cladistics* 15: 407–414.
- Nixon, K.** 2002. Winclada, vers. 1.00.08. http://www.cladistics.com/about_winc.htm.
- Ramírez, M.J.** 2006. Further problems with the incongruence length difference test: “hypercongruence” effect and multiple comparisons. *Cladistics* 22: 289–295.
- Simmons, M.P. & Ochoterena, H.** 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Syst. Biol.* 49: 369–381.
- Smith, A.C.** 1974. Studies of Pacific Island Plants. XXVII. The genus *Gardenia* (Rubiaceae) in the Fijian Region. *Amer. J. Bot.* 61: 109–128.
- Stearn, W.T.** 1995. *Botanical Latin*, 4th ed. Timber Press, Portland.
- Struwe, L.** 2003. Revision of Bolivian *Symbolanthus* (Gentianaceae—Helieae). *Harvard Pap. Bot.* 8: 19–24.
- Struwe, L. & Albert, V.A.** 1998a. *Lisianthus* (Gentianaceae), its probable homonym *Lisyanthus*, and the priority of *Helia* over *Irlbachia* as its substitute. *Harvard Pap. Bot.* 3: 63–71.
- Struwe, L. & Albert, V.A.** 1998b. Six new species of Gentianaceae from the Guayana Shield. *Harvard Pap. Bot.* 3: 181–197.
- Struwe, L. & Albert, V.A.** 2004. Monograph of neotropical *Potalia* (Gentianaceae: Potalieae). *Syst. Bot.* 29: 670–701.
- Struwe, L. & Gould, K.** 2004. Redefinition of *Symbolanthus* to include *Wurdackanthus* (Gentianaceae—Helieae). *Novon* 14: 354–359.
- Struwe, L., Kadereit, J., Klackenberg, J., Nilsson, S., Thiv, M., Hagen, K.B. von & Albert, V.A.** 2002. Systematics, character evolution, and biogeography of Gentianaceae, including a new tribal and subtribal classification. Pp. 21–309 in: Struwe, L. & Albert, V.A. (eds.), *Gentianaceae—Systematics and Natural History*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Struwe, L., Maas, P.J.M. & Albert, V.A.** 1997. *Aripuana cullmaniorum*, a new genus and species of Gentianaceae from white sands of southeastern Amazonas, Brazil. *Harvard Pap. Bot.* 2: 235–253.
- Struwe, L., Maas, P.J.M., Pihlar, O. & Albert, V.A.** 1999. Gentianaceae. Pp. 474–542 in: Berry, P.E., Yatskievych, K. & Holst, B.K. (eds.), *Flora of the Venezuelan Guayana*, vol. 5. Missouri Botanical Garden, St. Louis.
- Struwe, L., Nilsson, S. & Albert, V.A.** 2008. *Roraimaea* (Gentianaceae: Helieae)—a new gentian genus from white sands and tepuis of Brazil and Venezuela. *Harvard Pap. Bot.* 13: 35–45.
- Struwe, L., Thiv, M., Kadereit, J., Motley, T., Pepper, A. S.-R., Rova, J., Potgieter, K., White, P. & Albert, V.A.** 1998. *Saccifolium* (Saccifoliaceae), an endemic of Sierra de la Neblina on the Brazilian-Venezuelan frontier, is related to a temperate-alpine lineage of Gentianaceae. *Harvard Pap. Bot.* 3: 199–214.
- Thiv, M.** 2002. *Flora de la república de Cuba*, vol. 6 (1). Koeltz Scientific Books, Königstein.
- Thiv, M., Struwe, L., Albert, V.A. & Kadereit, J.W.** 1999a. The phylogenetic relationships of *Saccifolium bandeirae* Maguire & Pires (Gentianaceae) reconsidered. *Harvard Pap. Bot.* 4: 519–526.
- Thiv, M., Struwe, L. & Kadereit, J.W.** 1999b [2000]. The phylogenetic relationships and evolution of the Canarian laurel forest endemic *Ixanthus viscosus* (Alt.) Griseb. (Gentianaceae): evidence from *matK* and ITS sequence variation, and floral morphology and anatomy. *Pl. Syst. Evol.* 218: 299–317.
- Wong, K.M. & Sugau, J.B.** 1996. A revision of *Fagraea* (Loganiaceae) in Borneo, with notes on related Malesian species and 21 new species. *Sandakaniana* 8: 1–93.
- Yuan, Y.-M., Wohlhauser, S., Möller, M., Chassot, P., Mansion, G., Grant, J., Küpfer, P. & Klackenberg, J.** 2003. Monophyly and relationships of the tribe Exaceae (Gentianaceae) inferred from nuclear ribosomal and chloroplast DNA sequences. *Molec. Phylog. Evol.* 28: 500–517.
- Yoder, A.D., Irwin, J.A. & Payseur, B.A.** 2001. Failure of the ILD to determine data combinability for slow loris phylogeny. *Syst. Biol.* 50: 408–424.

Appendix 1. List of investigated species (with tribal affiliation) with GenBank accession numbers for the *trnL* intron (marked with superscript T), *matK* part 1 (position in tobacco 469–849, superscript M1) and *matK* part 2 (tobacco 963–1244, superscript M2), and ITS (superscript I), as well as vouchers and herbarium (for new sequences only).

Adenolisianthus arboreus Gilg, Helieae, EU709784^T, *B. Maguire* 55601 (NY); *Anthocleista amplexicaulis* Baker, Potalieae, AF102375^T, AJ388137^{M1}, AJ388206^{M2}, DQ449914^I; *Aripuana cullmaniorum* Struwe, Maas & V.A. Albert, Helieae, AJ242603^T, AJ388140^{M1}, AJ388209^{M2}, EU709785^T, *C. Ferreira* 5906 (NY); *Bartonia virginica* (L.) Britton, Sterns & Poggenb., Gentianeae, AJ315185^T, AJ388141^{M1}, AJ388210^{M2}, AJ318533^T, AJ410312^I; *Calolisianthus pendulus* (Mart.) Gilg, Helieae, AF102387^T; *Calolisianthus pulcherrimus* (Mart.) Gilg, Helieae, AF102388^T, AJ388142^{M1}, AJ388211^{M2}, EU709786^T, R.M. Harley & al. 15674 (NY); *Calolisianthus speciosus* Gilg, Helieae, EU709787^T, R.F. Vieira 723 (NY); *Centaurium maritimum* (L.) Fritsch, Chironeae, AY251733^T, AJ010508^{M1}, AJ251437^{M2}, AJ011466^I, AJ011476^I; *Chelonanthus alatus* (Aubl.) Pulle, Helieae, EU709790^T, *P. Berry* 5541 (NY); *Chelonanthus albus* (Spruce ex Progel) Badillo, Helieae, AF102397^T, EU709789^T, *J.M. Poole* 2049 (NY); *Chelonanthus grandiflorus* (Aubl.) Chodat & E. Hassl., Helieae, EU709788^T, *S. Mori* & al. 24801 (NY); *Chelonanthus purpurascens* (Aubl.) Struwe, S. Nilsson & V.A. Albert, Helieae, AF102398^T, AJ388146^{M1}, AJ388215^{M2}, EU709791^T, *P. Berry* 5533 (NY); *Chelonanthus viridiflorus* (Mart.) Gilg, Helieae, AF102399^T, EU709792^T, *W. Anderson* 9743 (NY); *Chironia linoidea* L., Chironeae, AY251747^T, AY251692^T, AY251722^I; *Chorisepalum psychotrioides* Ewan, Helieae, EU709793^T, *T.W. Hankel* 4267 (NY); *Chorisepalum sipapoanum* (Maguire) Struwe & V.A. Albert, Helieae, AJ388147^{M1}, AJ388216^{M2} (originally as *C. ovatum*); *Coutoubea spicata* Aubl., Chironeae, AY251745^T, AJ388150^{M1}, AJ388219^{M2}, EU709780^T, *S. Mori* & al. 24349 (NY); *Crawfordia thibetica* Franch., Gentianeae, Z48145^T, Z48123^I (as *C. tibetica*); *Enicostema verticillatum* (L.) Engl. ex Gilg, Potalieae, AF102414^T, AJ388155^{M1}, AJ388224^{M2}, EU709781^T, *S.R. Hill* 22020 (NY); *Fagraea berteriana* A. Gray, Potalieae, AF102419^T, AJ388157^{M1}, AJ388222^{M2}, DQ449918^I; *Fagraea fragrans* Roxb., Potalieae, AF102421^T, AY251689^T, AY251719^T; *Gentiana lutea* L., Gentianeae, X75702^T, Z48122^I, Z48119^I; *Gentianella amarella* (L.) Börner, Gentianeae, AJ406326^{M1}, AJ406355^{M2}, AJ580573^I; *Gentianopsis crinita* (Froel.) Ma, Gentianeae, AF102433^T, AJ406345^{M1}, AJ406373^{M2}, AJ294631^I, AJ294691^I; *Halenia palmeri* A. Gray, Gentianeae, AF102437^T, AJ388169^{M1}, AJ388239^{M2}, AJ294632^I, AJ294692^I; *Helia oblongifolia* Mart., Helieae, EU709794^T, *R.M. Harley* 25648 (NY); *Irlbachia nemorosa* (Willd. ex Roem. & Schult.) Merr., Helieae, EU709795^T, *H. Klinge s.n.* (NY); *Irlbachia poeppigii* (Griseb.) L. Cobb & Maas, Helieae, AF102441^T, EU709796^T, *C. Toedzia* & al. 2278 (NY); *Irlbachia pratensis* (H.B.K.) Griseb., Helieae, AF102442^T, EU709797^T, *P. Berry* 7579 (NY); *Irlbachia pumila* (Benth.) Maguire, Helieae, EU709798^T, *P.J.M. Maas* 6907 (U); *Ixanthus viscosus* (H.B.K.) Griseb., Chironeae, AY251741^T, AJ010521^{M1}, AJ011450^{M2}, AJ011481^I, AJ011471^I; *Lehmanniella splendens* (Hook.) Ewan, Helieae, AJ388172^{M1}, AJ388242^{M2}; *Lisianthus jefensis* A. Robyns & T.S. Elias, Potalieae, AF102448^T, AJ010522^{M1}, AJ011451^{M2}, EU709782^T, *J. Luteyn* 14796 (NY); *Lisianthus seemannii* (Griseb.) Kuntze, Potalieae, EU709783^T, *R.L. Weaver* 24310 (NY); *Macroparpea angelliae* J.R. Grant & Struwe, Helieae, AY397760^I, AY397761^I; *Macroparpea apparatus* J.R. Grant & Struwe, Helieae, DQ401413^I; *Macroparpea domingensis* Urb. & Ekman, Helieae, AF102454^T, AJ010523^{M1}, AJ011452^{M2}, EU709799^T, *P.J.M. Maas* 8395 (U); *Macroparpea gattaca* J.R. Grant, Helieae, DQ401414^I; *Macroparpea macrophylla* Gilg, Helieae, AF102455^T (originally as *M. glabra*), AJ489915^I; *Macroparpea rubra* Malme, Helieae, AF102457^T, AJ388175^{M1}, AJ388245^{M2}; *Macroparpea valerii* Standley, Helieae, AF102456^T, AJ010526^{M1}, AJ388176^{M1}, AJ388246^{M2}; *Nebelinantha parvifolia* Maguire, Helieae, AF102461^T, AJ388179^{M1}, AJ388249^{M2}; *Obolaria virginica* L., Gentianeae, AF102464^T, AJ388180^{M1}, AJ388250^{M2}, AJ318549^T, AJ410328^I; *Orphium frutescens* (L.) E. Mey., Chironeae, AY251748^T, AJ010525^{M1}, AJ011454^{M2}, AJ011465^I, AJ011475^I; *Potalia amara* Aubl., Potalieae, AF102470^T, AJ388183^{M1}, AJ388253^{M2}, DQ449919^I; *Prepusa montana* Mart., Helieae, EU709805^T; *L. Queiroz* 1846 (NY); *Purdieanthus pulcher* (Hook.) Gilg, Helieae, EU709800^T, *H. St. John* 20673 (US); *Sabatia angularis* (L.) Pursh, Chironeae, AF102476^T, AJ010526^{M1}, AJ011455^{M2}, AJ011467^I, AJ011477^I; *Swerthia perennis* L., Gentianeae, AY255695^T, AJ010528^{M1}, AJ011457^{M2}, AJ580550^I; *Symbolanthus australis* Struwe, Helieae, AF102489^T (as *S. calygonus*), EU709801^T, *L.J. Dorr* & al. 6691 (NY); *Symbolanthus frigidus* (Sw.) Struwe & K. Gould, Helieae, AF102498^T, AJ388198^{M1}, AJ388268^{M2}, EU709802^T, *G.R. Cooley* 8211 (NY); *Symbolanthus pulcherrimus* Gilg, Helieae, AF102488^T, EU709803^T, *J.F. Morales* & al. 1600 (NY); *Tachia grandiflora* Maguire & Weaver, Helieae, AJ388193^{M1}, AJ388263^{M2} (originally listed as *T. grandifolia*), DQ401415^I; *Tachia guianensis* Aubl., Helieae, AJ011433^{M1}, AJ011461^{M2}, DQ401419^I; *Tachia lorentensis* Maguire & Weaver, Helieae, AF102492^T, DQ401421^I; *Tachia occidentalis* Maguire & Weaver, Helieae, DQ401423^I; *Tachia parviflora* Maguire & Weaver, Helieae, DQ401424^I; *Tetrapollinia caeruleascens* (Aubl.) Maguire & B.M. Boom, Helieae, AF102494^T, AJ388194^{M1}, AJ388264^{M2}, EU709804^T, *M.N. Silva* & al. 145 (NY); *Tripterosperrum volubile* (D. Don) Hara, Gentianeae, AY858667^I.

Appendix 2. Morphological characters and their states. All characters were treated as unordered. Coding of data was based on own observations as far as possible, which also served as confirmation of literature data (see Materials and Methods for references). Retention indices from the most-parsimonious solution from the large combined (first) and small combined (second) analyses are presented in parenthesis after each character. If a character was an uninformative, the retention index was not applicable (n/a). Morphological terminology follows Stearn (1995).

- Habit: woody = 0; herbaceous (sometimes woody at very base) = 1. (0.73; 0.70). Suffrutescent herbs were coded as herbaceous, and the woody state was restricted to plants with branches and stems with secondary growth.
- Saprophytes: no = 0; yes = 1. (1.00; 1.00). No saprophytes are known from Helieae, but are present in two taxa included from the Gentianeaceae, *Bartonia* and *Obolaria*.
- Stems: not twining = 0; twining = 1. (1.00; 1.00). Twining stems are only found in *Crawfordia* and *Tripterosperrum* (Gentianeae-Gentianinae), and not in the Helieae.
- Stem color: green-brown = 0; white, yellow, or orange = 1; red or purple = 2. (0.42; 0.50).
- Resin at nodes: absent = 0; present = 1. (0.84; 0.88). This resin is presumably produced by colleters, small finger-shaped glands in the leaf axils and insides of sepals. Colleters are also present in many taxa that do not produce copious amounts of this sticky and usually clear resin (Struwe & Albert, 2004).
- Position of leaves, branch apex: evenly distributed along stem = 0; crowded at branch apices = 1. (0.42; 0.50). Some woody plants have leaves that are more tightly crowded at branch apices than along the stem, and sometimes the stems only have the leaf scars from leaves that have fallen off (e.g., *Adenolisianthus*, *Prepusa montana*, *Potalia*).
- Position of leaves, base: not in basal rosette = 0; in basal rosette = 1. (0.20; 0.00). Rosette leaves are restricted to herbaceous species.
- Young branches: glabrous = 0; hairy = 1; spiculate = 2; papillose = 3. (0.44; 0.50). Hairy branches are only found in some *Macroparpea* and *Chorisepalum* species, spiculate in *Enicostema*, and papillose only in *Celiantha bella*, *Chorisepalum ovatum*, *Lagenanthus*, and *Purdieanthus*.
- Indumentum on vegetative parts as very short, papill-like: absent = 0; present = 1. (0.00; 0.00). This type is only present in *Enicostema* and *Purdieanthus*.
- Indumentum on vegetative parts as short straight hairs: absent = 0; present = 1. (0.33; 0.33). *Chironia* and some *Macroparpea* have this type of hairs.
- Indumentum on vegetative parts as short, white bristles: absent = 0; present = 1. (1.00; n/a).
- Leaf margin: entire = 0; crenulate = 1; dentate = 2. (0.50; 1.00). Most gentians have entire margins, the exceptions are *Crawfordia thibetica*, *Lagenanthus* and *Tripterosperrum volubile* (with crenulate margins), and *Irlbachia poeppigii* (dentate).
- Underside of leaves with indumentum: absent = 0; present = 1. (0.42; 0.42).
- Leaf margin with small hairs: glabrous = 0; ciliate or hairy = 1. (0.50; 0.50).

Appendix 2. Continued-

15. Leaf margin: herbaceous = 0; thin, colorless, and membranaceous = 1. (0.60; 0.58).
16. Leaf margin: not thickened = 0; thickened = 1. (1.00; 1.00). Thickened leaf margins only occur in *Chorisepalum*, and are not correlated with coriaceous leaves.
17. Leaf margin: flat = 0; recurved = 1. (0.25; 0.12).
18. Petiole: present, distinct = 0; absent or indistinct (leaves sessile) = 1. (0.69; 0.70). In leaves with attenuate leaf bases this character can be hard to code, but we coded it strictly based on if the lamina reaches the base of the leaf or not (i.e. “winged petioles” would be coded as not having a petiole if the wing, the lamina, reached the base of the leaf).
19. Petiole vagination: absent = 0; present = 1. (0.75; 0.75). In several species of *Macrocarpaea* the petiole’s upper side is vaginated into a shorter or longer furrow.
20. Interstipular structures: line = 0; sheath = 1. (0.53; 0.55). The difference between a line and sheath is that the line is merely a scar-like area, whereas the sheath is a interpetiolar ridge (low ochrea) that partly encloses the stem. Sheaths are only found in tree-like or shrubby species.
21. Lower secondary veins: straight = 0; bent towards apex (arcuate) = 1. (0.61; 0.66). Leaf venation in the Gentianaceae is not very complex with all taxa having pinnate venation, but differs in the curvature of secondary veins. Leaves often have only a few secondary veins that diverge at the base of the leaf or below middle, and curve outwards, upwards towards the tip of the leaf (arcuate, like arches). In contrast, other species have secondary veins that are straight towards the leaf edge.
22. Pairs of secondary veins (number): 0 = 0; 1–2 = 1; 3 or more = 2. (0.60; 0.57). It seems like that larger leaves and woody habit are somewhat correlated with an increased number of secondary veins.
23. Secondary veins underneath leaf: not prominent = 0; prominent and raised = 1. (0.50; 0.33). The midvein is generally raised in all gentians, but the secondary veins can either be raised or not from the lower leaf surface.
24. Inflorescence position: terminal = 0; axillary = 1. (0.61; 0.54).
25. Inflorescence type: cymose (with top flower) = 0; racemose (no top flower, incl. thyrse) = 1; on cushion, not cymose or racemose = 2. (0.90; 1.00). *Chorisepalum* and *Tachia* are the only genera with flowers positioned on small cushions (short shoots?) in the leaf axils.
26. Flower number: 2 or more per inflorescence = 0; solitary = 1. (0.41; 0.20). Rarely plants with solitary flowers have two flowers together, but they were still coded as single flowers. Similarly, very small individuals of the annual *Tetrapollinia* might only have one flower, but this is likely due to limited resources and the production of dwarf-like specimens, not genetic traits, since the whole plant is reduced in size.
27. Inflorescence branches hairs: glabrous = 0; hairy = 1; spiculate or papillate = 2; tuberculate = 3. (0.28; 0.25). This character was not coded for *Tachia*, since their flowers are sessile.
28. Main inflorescence branches fusion: not fused = 0; fused at base only = 1. (1.00; 1.00). Fused branches in the basal part of the inflorescence is a character state only known from *Macrocarpaea*.
29. Bracteoles, shape and structure: triangular, scale-like = 0; leaf-like = 1. (0.65; 0.65). In some species with leaf-like bracteoles, the more apical bracteoles become more scale-like. Bracteoles refer to the paired bracts below each flower.
30. Bracteoles: present = 0; absent = 1. (0.57; 0.80). Bracteoles are absent from *Tachia* and some *Chorisepalum*.
31. Flower orientation at anthesis: erect or horizontal = 0; nodding or nutant = 1. (0.60; 0.60). The pedicel position is an important taxonomic character.
32. Calyx merosity: 5(6–7)-merous = 0; 4-merous = 1; 2-merous = 2. (0.63; 0.57).
33. Calyx color: green = 0; white, yellow, orange = 1; red, purple, blue = 2. (0.11; 0.12).
34. Sepals position: one whorl = 0; decussate = 1. (0.83; 0.66).
35. Sepals dorsally thickened: not thickened = 0; thickened = 1. (0.86; 0.85). Helieae and most species in subtribe Potaliinae are characterized by sepals that are dorsally thickened.
36. Dorsal keel on sepals: not keeled = 0; dorsal keel = 1; one dorsal wing (distinct thin wing) = 2; two dorsal wings (distinct thin wing) = 3. (0.15; 0.11). A dorsal wing and keel is different from the general thickening of the sepals (ch. 35) in that in cross-section a keel and wing do not show a gradual increase in thickness from the edge to the center, instead it is more abrupt. A keel has a broader base than a wing, which is thin and narrow.
37. Dorsal glandular area on sepals: absent = 0; present = 1. (1.00; 1.00). The glandular areas are often only seen as darker areas in dried specimens, but are seen as more shiny areas in the field and in photos. These glands are often visited by ants in *Calolisanthus*, *Chelonanthus* and *Helia*.
38. Sepal margin: chartaceous = 0; membranaceous = 1. (0.63; 0.68).
39. Sepal margin, indumentum: glabrous, entire or erose = 0; ciliate or papillose = 1. (0.44; 0.36).
40. Sepals outside, indumentum: glabrous = 0; simple hairs = 1. (0.33; 0.33).
41. Sepals outside, indumentum: glabrous = 0; short, white bristles = 1. (1.00; n/a).
42. Calyx persistence in fruit: persistent = 0; deciduous = 1. (0.84; 0.78). The persistence of the calyx in fruit appears to be a good character for phylogenetic purposes, and in Helieae, deciduous calyces is a synapomorphy for the *Macrocarpaea* subclade. However, in some species the calyx only falls off in old fruits, after the fruits have opened.
43. Calyx texture: membranaceous and/or papyraceous = 0; woody/coriaceous = 1. (0.87; 0.83).
44. Corolla merosity: 5 = 0; 4 = 1; 6(–7) = 2; 8 or more = 3. (0.76; 0.57).
45. Corolla basic color: green, white, or yellow = 0; blue, pink, or purple = 1; red or orange = 2. (0.47; 0.40). Blue species can very rarely have white corollas (like *Campanula*), but were coded as blue here. The blue and red coloring is likely due to anthocyanins, but color chemistry has not been investigated within the tribe yet.
46. Corolla tube inflation right above stamen insertion point: not inflated = 0; inflated = 1. (0.79; 0.71). This is a distinct character both in living and dried specimens. In species with inflated corolla tubes, the corolline-staminal tube is thinner and narrower, and above the stamens, the corolla tube becomes thicker and is immediately widened, sometimes up to 10 times the width of the corolline-staminal tube. Often the lower part of the corolla is hidden inside the calyx, and this character could only be coded for species where we had abundant herbarium or pickled material.
47. Corolla constricted at mouth (inflated): not constricted at mouth = 0; constricted at mouth (more balloon-shaped) = 1. (0.50; 0.33). The corolla tube is constricted right below the corolla lobes in *Lagenanthus*, *Lehmanniella*, and *Purdianthus*, creating an inflated corolla tube.
48. Corolla tube, abaxial part: symmetric, not hump-like = 0; asymmetric, with hump (*Chelone*-like) = 1. (1.00; 0.66). A hump is a zygomorphic inflation of the corolla tube, toward the upper part of a horizontal flower. This character is only present in green-white flowered *Chelonanthus* and *Rogersonanthus* species, and hard to see in pressed material, but is more obvious in the field, in photos, and in liquid-preserved collections.
49. Corolla outside papillose: glabrous = 0; papillose = 1. (1.00; 1.00).
50. Corolla plicae: absent = 0; present = 1. (1.00; 1.00). Plicae are extra folds of coralline tissue in the sinuses of the corolla lobes.
51. Corolla inside, indumentum: absent = 0; present = 1. (0.00; n/a).
52. Corolla inside, glands: absent = 0; glands present = 1. (0.75; 0.75). Corolline glands are known from subtribe Swertiinae.
53. Corolla texture: not fleshy, thin = 0; fleshy or coriaceous, thick = 1. (0.75; 0.74). This character is possible to code from dried herbarium collections, since thin corollas dry to paper-like texture, and the fleshy corollas are thicker and not transparent when dried.
54. Corolla persistence in fruit: persistent = 0; deciduous at base = 1. (0.62; 0.54).
55. Corolla lobes, apical appendages: absent = 0; appendage present = 1. (0.25; 0.00). Corolla lobes with apical appendages are strongly acuminate, but when they are absent the lobe apices are obtuse to acute.
56. Corolla bud apex: round = 0; tapering to sharp point = 1. (0.62; 0.59). This character is neither influenced by the type of aestivation, nor the shape of the corolla lobes.
57. Corolla aestivation: contort = 0; valvate-contort = 1; imbricate = 2. (0.50; 0.00). Valvate-contort corolla lobes are only found in *Aripuana*, where the corolla lobes are valvate in their lower parts, and contort only at the corolla lobe apices.
58. Corolla lobe apex with darkened tip: not darkened = 0; darkened = 1.

Appendix 2. Continued-

- (0.66; 0.60). *Adenolisianthus*, *Calolisianthus*, *Chelonanthus* (not *C. purpurascens*), and *Helia* have corolla lobes with darker, often green apices.
59. Corolla lobe margin: entire or erose = 0; fringed = 1; ciliate or papillose = 2. (0.41; 0.38). Papillose and ciliate margins can usually only be seen under at least 10× magnification, not with the naked eye.
60. Stamina-corolla insertion: stamen inserted in corolla tube, not close to corolla lobe sinuses = 0; inserted in corolla lobe sinuses = 1; inserted in corolla tube, but very close to sinuses = 2. (0.63; 0.55).
61. Filaments, length: of equal length = 0; of unequal lengths = 1. (0.88; 0.84).
62. Androecium, symmetry: actinomorphic = 0; zygomorphic with stamens bent and anthers clustered in lower part of corolla mouth = 1. (0.80; 0.72).
63. Filament-corolla fusion: filaments free = 0; filaments on a fleshy base, no annulus = 1; inserted on fleshy ring (annulus) or with basal staminal appendages = 2. (0.25; 0.25).
64. Staminal gaps: absent = 0; present = 1. (0.70; 0.60). Staminal gaps are pockets between the corolla and the filament traces in the corolla tube, and these are only known from the Heliceae.
65. Staminal corona: absent = 0; present = 1. (1.00; 1.00). A staminal corona is a structure unique to *Symbolanthus*, and consists of a ring or flaps of tissue in the inside of the corolla tube at the insertion point of the stamens.
66. Filament base: not winged = 0; winged = 1. (0.68; 0.61).
67. Corolla tube inside: not winged = 0; winged below insertions of stamens (or ridges) = 1. (0.33; 0.33). When wings are present, these are usually extensions from winged filaments that extend down into the corolla tube.
68. Filament at insertion into corolla: not knee-bent = 0; knee-bent = 1. (0.64; 0.61). Filaments that are knee-bent are bent about 90 degrees, while most stamens are inserted straight into and parallel to the corolla tube.
69. Filaments close to anther: not curved = 0; curved 180–360 degrees = 1. (0.71; 0.55).
70. Filaments shape in cross-section: filiform = 0; flattened to winged = 1. (0.57; 0.65).
71. Anther shape at anthesis: straight = 0; curved, recurved = 1; spirally twisted lengthwise = 2; backwards bent, versatile = 3. (0.70; 0.68).
72. Anther apex: not sterile = 0; sterile tip = 1. (0.58; 0.72).
73. Disk around base of ovary: no disk = 0; with disk or nectariferous tissue = 1. (0.52; 0.56).
74. Ovary position: sessile = 0; stipitate = 1. (0.60; 0.40).
75. Style persistence in fruit: persistent = 0; deciduous (sometimes the base is left) = 1. (0.61; 0.60).
76. Style shape: thin, long = 0; stout, short = 1. (0.88; 0.88).
77. Style, when dry: filiform = 0; flattened, twisted lengthwise = 1. (0.94; 0.93). The flattened and twisted dry styles are an excellent field identification character for Heliceae.
78. Style, symmetry: actinomorphic = 0; zygomorphic (bent upwards at apex) = 1. (0.72; 0.61).
79. Stigma shape: bilamellate = 0; obconical-simple = 1; capitate-peltate = 2. (0.33; 0.33).
80. Stigma lobe shape: round to elliptic = 0; linear = 1. (0.50; 0.50). Linear lobes are at least three times as long as wide.
81. Fruit position: erect = 0; pendulous, nodding = 1. (0.78; 0.70).
82. Dehiscence type: indehiscent = 0; bivalved, apical = 1; 4-valved (*Chorisepalum* type) = 2; bivalved, medial = 3. (0.81; 0.75). In medially dehiscent fruits, the persistent style forces the apex of the fruit shut, so it opens medially out of necessity from the development of the fruit.
83. Fruit valves, persistence: persistent = 0; deciduous, without dried vascular traces = 1; deciduous, with persistent vascular traces = 2. (0.88; 1.00).
84. Fruit skin, texture when fresh: dry = 0; fleshy = 1; leathery = 2. (1.00; 1.00).
85. Fruit, mesocarp: no separation = 0; mesocarp splits into a thinner outer part, and an inner more fibrous part = 1. (0.83; 0.87).
86. Fruit color, when mature and fresh: brown, beige = 0; green, yellow = 1; red, purple = 2. (0.66; 0.66).
87. Placenta on mature fruits: not prominent = 0; thin, erose bands = 1; woody, thick = 2; fleshy = 3. (0.57; 0.58).
88. Placenta, shape: simple = 0; peltate = 1; inrolled = 2. (0.87; 0.87).
89. Pollen when released: monads = 0; tetrads = 1; polyads = 2. (0.86; 0.85).
90. Pollen, aperture: colporate = 0; porate = 1. (0.55; 0.44).
91. Columellae/muri as spines: absent = 0; spines present = 1. (0.60; 0.50).
92. Columellae/muri as loops: absent = 0; loops present = 1. (0.50; 0.50).
93. Exine thickness, equator: not thicker at equator = 0; thickest at equator = 1. (0.78; 0.75).
94. Exine thickness, polar: polar areas not thicker = 0; polar areas with thicker exine = 1. (0.75; 0.61).
95. Special polar end processes: none = 0; one glob = 1; one spine = 2; many spines = 3. (0.83; 0.66).
96. Pores: without thick lamellar margin = 0; with thick lamellar margin = 1; protruding margins = 2; intruding margins = 3. (0.87; 1.00).
97. Internal wall perforated (in tetrads and polyads only): not perforated = 0; perforated = 1. (0.66; 0.00).
98. Lumina: smooth = 0; granular = 1. (0.75; 0.50).
99. Tectum: absent = 0; present, solid = 1; present, perforate = 2. (0.27; 0.33).
100. Columellae/muri as globules (macro): absent = 0; present = 1. (0.75; n/a).
101. Columellae/muri as microglobules: absent = 0; present = 1. (0.57; 0.00).
102. Columellae/muri as large pila: absent = 0; reticulum as elongated processes (large pila) = 1. (0.20; 0.00).
103. Muri/columellae as small pila: absent = 0; as small pila = 1. (0.61; 0.33).
104. Muri: evenly thickened = 0; unevenly thickened = 1. (0.80; 0.83).
105. Muri: smooth = 0; granular = 1; keeled = 2; not fused = 3. (0.50; 0.50).
106. Mesh-size in reticulum: even mesh-size = 0; larger meshes in polar areas = 1; larger meshes in equatorial areas = 2. (0.75; 0.70).
107. Columellae/tectum pattern: reticulate = 0; scabrate, verrucose = 1; striate = 2. (0.62; 0.60).
108. Reticulum: finely reticulate, striate = 0; coarsely reticulate = 1; differentially reticulated = 2. (0.70; 0.57).
109. Seed shape: angular/polyhedral = 0; globose/subglobose/elliptic = 1; flattened = 2. (0.65; 0.65).
110. Seeds, shape with ridges: surface even = 0; rimmed with raised ridges and sunken sides = 1. (0.82; 0.86).
111. Seed wing: absent = 0; present all around (single wing, sometimes on 3 sides) = 1; present on one to many side, partial wing, sometimes many = 2. (0.75; 0.60).
112. Seed, hilum: indistinct = 0; distinct, sunken = 1. (1.00; 1.00).
113. Testa, testa cells shape: polygonal = 0; elongated = 1. (0.33; 0.33).
114. Testa, outer wall: collapsed, thin, pressed against inner wall or absent, concave = 0; not collapsed, dome-like, cells convex (rarely collapsed on sides) = 1. (0.80; 0.80).
115. Testa, outer wall, band-like thickenings: without = 0; with band-like thickenings = 1. (0.80; 0.86).
116. Testa, anticlinal walls: straight (to slightly bent) = 0; curved, S-shaped at most = 1; waved, zig-zag-shaped = 2. (0.46; 0.36).
117. Testa, anticlinal walls: thin = 0; thick = 1. (0.50; 0.33).
118. Testa, anticlinal boundaries: smooth = 0; raised = 1; sunken = 2. (0.46; 0.44).
119. Testa, anticlinal wall, thickenings: absent = 0; band-like thickenings present = 1. (0.00; 0.00).
120. Testa, anticlinal wall structure: smooth = 0; papillate, granular = 1. (0.50; 1.00).
121. Testa, anticlinal walls structure: not pitted = 0; pitted = 1. (0.60; 0.50).
122. Testa, anticlinal walls: not reticulate = 0; reticulate = 1. (0.50; 0.33).
123. Testa, inner wall, thickenings: without band-like thickenings = 0; with band-like thickenings = 1. (0.75; 0.00).
124. Testa, inner wall, structure: smooth = 0; pitted (many pits) = 1. (0.64; 0.55).
125. Testa, inner wall, papillae: absent = 0; papillate, granular = 1. (0.46; 0.40).
126. Testa, inner wall, reticulum: not reticulate = 0; reticulate = 1. (0.70; 0.44).
127. Testa, cuticle: smooth = 0; granular with exudates = 1. (0.50; 0.50).

Appendix 3. Coded insertions/deletions (indels) for ITS using the simple gap coding method. Leftmost numbers refer to character number (within parenthesis in the combined data matrix), positions refer to nucleotide position in the ITS alignment. For each indel, state 0 is the absence of a nucleotide, and 1 is the presence of one.

-
- 1 (802) position 25
 - 2 (803) position 39
 - 3 (804) position 40–41
 - 4 (805) position 55
 - 5 (806) position 60
 - 6 (807) position 62
 - 7 (808) position 64
 - 8 (809) position 89
 - 9 (810) position 90
 - 10 (811) position 107
 - 11 (812) position 108–109
 - 12 (813) position 111
 - 13 (814) position 112
 - 14 (815) position 134
 - 15 (816) position 135
 - 16 (817) position 136
 - 17 (818) position 144
 - 18 (819) position 146
 - 19 (820) position 157
 - 20 (821) position 169–171
 - 21 (822) position 174
 - 22 (823) position 183
 - 23 (824) position 197
 - 24 (825) position 209
 - 25 (826) position 237
 - 26 (827) position 252
 - 27 (828) position 253
 - 28 (829) position 432
 - 29 (830) position 433
 - 30 (831) position 434
 - 31 (832) position 439
 - 32 (833) position 440–446
 - 33 (834) position 452
 - 34 (835) position 453
 - 35 (836) position 462
 - 36 (837) position 468
 - 37 (838) position 469–470
 - 38 (839) position 475
 - 39 (840) position 485
 - 40 (841) position 486
 - 41 (842) position 514
 - 42 (843) position 603
 - 43 (844) position 610
 - 44 (845) position 629
 - 45 (846) position 640
 - 46 (847) position 649
-

Appendix 4. Coded insertions/deletions (indels) for the *trnL* intron using the simple gap coding method. Leftmost numbers refer to character number (within parenthesis in the combined data matrix), positions refer to nucleotide position in the *trnL* intron alignment. For each indel, state 0 is the absence of a nucleotide, and 1 is the presence of one.

-
- 1 (2013) position 73–76
 - 2 (2014) position 88–89
 - 3 (2015) position 92
 - 4 (2016) position 124–126
 - 5 (2017) position 127
 - 6 (2018) position 128–132
 - 7 (2019) position 133
 - 8 (2020) position 134–137
 - 9 (2021) position 146
 - 10 (2022) position 147
 - 11 (2023) position 164–174
 - 12 (2024) position 175
 - 13 (2025) position 237
 - 14 (2026) position 324–334
 - 15 (2027) position 468
-