

Filogenia, Sistemática e Evolução de *Adenocalymma* (Bignonieae, Bignoniaceae)

Filogenia, Sistemática e Evolução de *Adenocalymma* | Luiz Henrique M. Fonseca



Luiz Henrique Martins Fonseca

Filogenia, sistemática e evolução de *Adenocalymma*
(Bignonieae, Bignoniaceae)

Phylogeny, systematics and evolution of *Adenocalymma*
(Bignonieae, Bignoniaceae)

Luiz Henrique Martins Fonseca

Filogenia, sistemática e evolução de *Adenocalymma*
(Bignonieae, Bignoniaceae)

Phylogeny, systematics and evolution of *Adenocalymma*
(Bignonieae, Bignoniaceae)

Luiz Henrique Martins Fonseca

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

Orientadora: Dra. Lúcia G. Lohmann

São Paulo
2016

Fonseca, Luiz Henrique Martins
Filogenia, sistemática e evolução de *Adenocalymma*
(Bignoniaceae, Bignoniaceae)
372 páginas

Tese (doutorado) – Instituto de Biociências da
Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica.

1. Filogenômica 2. Evolução molecular 3. Sinopse
Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências.
Departamento de Botânica

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Profa. Dra. Lúcia G. Lohmann
Orientadora

existe apenas um bem, o conhecimento, e um mal, a ignorância

– Sócrates (?)

Agradecimentos

- Primeiramente gostaria de agradecer à minha orientadora, Dr. Lúcia Lohman, por todos esses anos de aprendizado. Da iniciação científica ao doutorado, seu entusiasmo e incentivo sempre me moveram e continuam movendo.
- Gostaria de agradecer também às fontes de financiamento que tonaram o projeto uma realidade. À Capes pela bolsa de doutorado e à ASPT (American Society of Plant taxonomists), BSA (Botanical Society of America) e IAPT (International Association of Plant Taxonomists) pelo grants recebidos. Também gostaria de agradecer à FAPESP (Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo) pelos auxílios concedidos à minha orientadora e que financiaram parte de nossa pesquisa.
- À IAPT e IBC 2017 committee por viabilizarem financeiramente minha ida ao Congresso Internacional de Botânica, onde irei apresentar parte dos meus resultados.
- À Universidade de São Paulo pela estrutura fornecida para o desenvolvimento da minha pesquisa e formação acadêmica.
- Aos professores do Laboratório de Sistemática Vegetal, José Rubens Pirani, Renato Mello-Silva e Paulo Sano.
- Aos técnicos do Laboratório de Sistemática Vegetal, Abel Cangussú, Adriana Marchioni, Roberta Figueiredo e Viviane Jono.
- Aos colegas de aprendizado, Alexandre Zuntini, Alison Nazareno, Annelise Frazão, Anselmo Nogueira, Augusto Giaretta, Beatriz Gomes, Benoît Loeiulle, Caetano Trancoso, Carolina Siniscalchi, Carolina Mittelstadt, Caroline Andrino, Cíntia Luz, Eduardo Leal, Eric Kataoka, Gisele Alves, Guilherme Antar, Gustavo Heiden, Jenifer Lopes, Jéssica Carvalho, Juan Pablo Nárvaez, Juliana Rando, Juliana El Ottra, Juliana Lovo, Kyoshi Peralta, Leonardo Borges, Maila Beyer, Marcelo Devecchi, Marcelo Kubo, Mateus Cota, Matheus Fortes Santos, Maurício Watanabe, Paulo Gonella, Renato Ramos e Verônica Thode. Em especial gostaria de agradecer aos parceiros de discussões Juan Pablo Narváez e Leonardo Borges, por compartilharem comigo suas ideias e momentos agradáveis de reflexão. Que essa roda viva siga girando.

- Aos meus parceiros de campo, Beatriz Gomes, Bruno de Medeiros, Jenifer Lopes, Jéssica Carvalho, Maila Beyer, Marcelo Devecchi, Dr. Richard Olmstead e Thaís Vasconcelos.
- Aos curadores e técnicos dos herbários visitados por facilitarem meu trabalho.
- Ao Alison Nazareno, Monica Carlsen e Verônica Thode pela ajuda com as bibliotecas para sequenciamento genômico.
- À Carmen Ulloa, Nora Oleas, John Prusky, Rosa Gentry, Mary Mcnamara e Alba pela simpatia e por todas as ajudas quando visitei o Missouri Botanical Garden. Gostaria de agradecer também ao Marcelo Pace por me receber em sua casa em Washington DC.
- À minha namorada Mirella Giglio, que esteve ao meu lado em momentos do doutorado e está em sua pior parte, o fim. Sem o seu amor e companheirismo tudo seria mais difícil.
- Aos meus familiares, minha mãe, meu pai, meu irmão Carlos e minha cunhada Priscila pelo apoio e ajuda incondicionais.

Índice

Resumo 1

Abstract 2

Introdução 3

Capítulo 1

Plastid genomic architecture of the “*Adenocalymma-Neojobertia*” clade (Bignoniaceae, Bignoniaceae) and its phylogenetic implications 7

Capítulo 2

Using phylogenomics to understand the evolution of morphology in a diverse Neotropical plant clade 40

Capítulo 3.1

Two new species of *Adenocalymma* (Bignoniaceae, Bignoniaceae) from the Atlantic Forest of Brazil 97

Capítulo 3.2

***Adenocalymma cauliflorum* (Bignoniaceae, Bignoniaceae), a New Cauliflorous Species from the Atlantic Forest of Eastern Brazil 114**

Capítulo 4

An updated synopsis of *Adenocalymma* (Bignoniaceae, Bignoniaceae) 128

Conclusão 372

Resumo

O clado “*Adenocalymma-Neojobertia*” representa um dos dois principais clados da tribo Bignoniaceae. Ele inclui lianas, arbustos e arvores distribuídas por todo o neotrópico, e possui como centro de diversidade a Amazônia brasileira e a Mata Atlântica. O clado é extremamente variável em termos da morfologia e distribuição geográfica, o que o torna um desafio taxonômico para a circunscrição de espécies e gêneros. A classificação atual de Bignoniaceae reconhece *Adenocalymma* de forma ampla (82 espécies), já *Neojobertia* (três espécies) está entre os menores gêneros. Aqui, nós utilizamos sequenciamento de última geração (plastomas completos ou quase completos) e sequenciamento Sanger (*ndhF*, *rpl32-trnL*, *PepC*) para inferir a filogenia do clado “*Adenocalymma-Neojobertia*” utilizando uma ampla amostragem de caracteres (>88,137 pb) e taxa (90% de todas as espécies). Nossos resultados indicam que *Adenocalymma* é parafilético como circunscrito atualmente, com *Neojobertia* e *Pleonotoma albiflora* incluídos. Padrões de evolução morfológica foram avaliados para todo o clado utilizando métodos comparativos. Sinal filogenético e evolução pontuada foram testados e estados ancestrais inferidos para 32 caracteres. Desses, 19 caracteres possuem sinal filogenético e quatro são sinapomorfias de clados internos. Pecíolos e pecíolulos articulados emergiu como potencial sinapomorfia de todo o clado “*Adenocalymma-Neojobertia*”. Entre os caracteres que não possuem sinal filogenético, quatro caracteres com importância ecológica chamam a atenção: (i) Hábito, (ii) cor da corola, (iii) forma da corola e (iv) presença de tricomas cupulares na corola. Hábito emergiu como altamente homoplástico e está potencialmente relacionado com a ocupação de novos habitats. A morfologia floral também emergiu como altamente homoplástica e evoluindo de forma pontuada, sugerindo que a cor da corola, forma da corola e a presença de tricomas cupulares na corola podem ter sido os responsáveis pela diversificação em pelo menos parte do clado. A filogenia molecular e o estudo morfológico foram então utilizados como subsídio para propor uma sinopse atualizada de *Adenocalymma*. A nova circunscrição do gênero proposta aqui revisa os limites das espécies e inclui todas as espécies de *Neojobertia* e *P. Albiflora* agora todas em *Adenocalymma*. Ao todo, estão sendo propostas quatro novas combinações, três espécies novas apresentadas e 15 novos sinônimos, fazendo com que o *Adenocalymma* tenha agora 74 espécies reconhecidas. Para todas as espécies reconhecidas, nós apresentamos comentários taxonômicos, comparações com espécies próximas, informação sobre o habitat, distribuição e fenologia. Além disso, mapas de distribuição e gráficos de fenologia são apresentados para todas as espécies.

Abstract

The “*Adenocalymma-Neojobertia*” clade represents one of two main clades of tribe Bignoniaceae. It includes lianas, shrubs, and treelets that are distributed throughout the Neotropics, and centered in Amazonia and the Atlantic Forest of Brazil. This clade is extremely variable in terms of morphology and geography, which has led to a series of taxonomic challenges in the circumscription of species and genera. The most recent classification of tribe Bignoniaceae recognizes a broad *Adenocalymma* (82 species) and a small *Neojobertia* (three species). Here, we used NGS (complete and nearly-complete plastomes) and Sanger sequencing data (*ndhF*, *rpl32-trnL*, *pepC*) to infer a robust phylogeny of the “*Adenocalymma-Neojobertia*” clade based on a broad sampling of molecular characters (> 88,137 bp), and taxa (90% of the overall species diversity). Our findings indicate that *Adenocalymma* is paraphyletic as currently circumscribed, with *Neojobertia* and *Pleonotoma albiflora* nested herein. Patterns of morphological evolution were evaluated for the whole clade using comparative methods. Phylogenetic signal and punctuated evolution was tested and ancestral character states inferred for 32 selected characters. Of these, 19 characters have significant phylogenetic signal and four are synapomorphies of internal clades. Articulated petioles and petiolules emerged as a putative synapomorphy of the whole “*Adenocalymma-Neojobertia*” clade. Among the characters without phylogenetic signal, four morphological traits of ecological significance are particularly relevant: (i) plant habit, (ii) corolla color, (iii) corolla shape, and (iv) corolla cupular trichomes. Plant habit was shown to be highly homoplastic and is thought to be associated with the occupation of new environments. Flower morphology was also highly homoplastic and evolved in a punctuated manner, suggesting that corolla color, corolla shape, and corolla cupular trichomes may have been important drivers of evolution in at least portions of this clade. The molecular phylogeny and the morphological information were then used to subsidize an updated synopsis of *Adenocalymma*. The new circumscription of the genus proposed here revises species limits and includes all species of *Neojobertia* and *P. albiflora* within *Adenocalymma*. Overall, four new combinations, three new species, and 15 new synonymies are proposed, leading to 74 taxa within *Adenocalymma*. For each species recognized, we provided taxonomic comments, comparisons between closely related taxa, information on the habitat, distribution, and phenology. In addition, distribution maps, and phenology plots are also shown for all species.

Introdução

Bignoniaceae é uma família de arbustos, árvores e arvoretas (Gentry 1973) com aproximadamente 80 gêneros e 840 espécies (Lohmann e Ulloa 2006, em diante), metade das quais ocorrem no Brasil (Lohmann 2010, em diante). A família é parte da tribo Lamiales e constitui um grupo monofilético sustentado por caracteres morfológicos e dados moleculares (Olmstead *et al.* 2009).

A tribo Bignonieae representa o clado principal de Bignoniaceae, incluindo metade das espécies conhecidas (Lohmann 2006). Membros da tribo ocupam uma grande variedade de habitats, que vão desde florestas tropicais úmidas (p. ex., Mata Atlântica e Amazônia) até florestas sazonalmente secas (p. ex., Caatinga e Chaco) e áreas abertas secas (p. ex., Cerrado). As espécies de Bignonieae apresentam ampla variação em sua distribuição geográfica, incluindo espécies micro-endêmicas (p. ex., *Adenocalymma chocoense*) até espécies amplamente distribuídas pela América Tropical (p. ex., *Dolichandra unguis-cati*) (Lohmann e Taylor 2014).

Segundo a sinopse mais recente da tribo Bignonieae (Lohmann e Taylor 2014) *Adenocalymma* inclui 82 espécies, representando o maior gênero de Bignonieae. Essa circunscrição de *Adenocalymma* também inclui espécies anteriormente descritas em *Memora* e *Sampaiella* (Lohmann 2006), agora sinonimizadas em *Adenocalymma* (Lohmann e Taylor 2014). Esta circunscrição do gênero foi baseada em um estudo filogenético onde um quarto das espécies da tribo e 14 espécies do clado *Adenocalymma* foram amostradas (Lohmann 2006). Neste estudo, *Adenocalymma* emergiu como um grupo monofilético, bem sustentado por caracteres moleculares (91% MP, 100% PP) e irmão do gênero *Neojobertia* (100% MP, 100% PP) (Lohmann 2006). A sinapomorfia morfológica que sustenta o gênero é a presença da tricomas cupulares nas brácteas, bractéolas, cálice, perfis e frutos (Lohmann e Taylor 2014).

A distribuição geográfica de *Adenocalymma* e *Neojobertia* se estende por todo o Neotrópico, indo do México à Argentina e sul do Brasil. Suas espécies encontram-se em altitudes baixas e médias (até 2000 m) e estão distribuídas em dois centros de diversidade: Amazônia e Mata Atlântica. O restante do gênero ocorre principalmente no Cerrado e Caatinga, com *A. apurense* ocorrendo em florestas úmidas e secas da América Central (Lohmann e Taylor 2014).

Entre os caracteres morfológicos das espécies de *Adenocalymma* e *Neojobertia*, chama a atenção a variação encontrada nas formas de vida, e nas morfologias da flor, fruto, sementes e pólen (Lohmann e Taylor 2014; Gentry e Tomb 1980). Em termos do hábito, *Adenocalymma* inclui lianas, arbustos e arvoretas (Lohmann e Taylor 2014). Em termos da morfologia floral, observamos grande variação em caracteres relacionados às síndromes de polinização, como diferenças na forma das corolas e sua coloração (Alcantara e Lohmann 2010). Também observamos diferenças no posicionamento dos verticilos reprodutivos, com estigmas e estames excertos ou inseridos no tubo da corola. As síndromes mais comuns são melitofilia e ornitofilia (Gentry 1990, Alcantara e Lohmann 2010). Os frutos podem ser alados ou não, achatados ou globosos. As espécies do gênero apresentam duas estratégias distintas de dispersão das sementes, por água e pelo vento (Gentry 1973). O polén também é bastante variável em termos de ornamentação e número de aberturas (Gentry e Tomb 1980).

Toda essa variação morfológica e geográfica torna o clado composto por *Adenocalymma* e *Neojobertia* um desafio em termos taxonômicos e um excelente modelo para estudos evolutivos. Além disso, a atual amostragem filogenética para este clado é de 14 espécies (Lohman 2006), de forma que os padrões de variação morfológica ainda estão por serem desvendados num contexto evolutivo. No presente estudo nós: (1) Reconstruímos a filogenia para o clado composto por *Adenocalymma* e *Neojobertia* utilizando dados provenientes de sequenciamento de última geração (“NGS”) e Sanger (*ndhF*, *rpl32-trnL*, *pepC*); (2) Conduzimos um estudo morfológico de todas as espécies a fim de entender como tais caracteres estão evoluindo no clado e quais podem ser utilizados como subsídio na delimitação dos taxa; e (3) Elaboramos uma sinopse atualizada para o gênero, incluindo informações sobre a morfologia, ecologia e distribuição geográfica para todas as espécies. A tese está estruturada da seguinte forma:

Capítulo 1. Neste capítulo realizamos um estudo filogenômico utilizando dez espécies do clado *Adenocalymma-Neojobertia*” (nove de *Adenocalymma* e *Neojobertia candolleana*), para as quais obtivemos plastídeos completos. O objetivo deste trabalho foi testar diferentes estratégias de análise dos dados genômicos e utilizar o resultado como marco analítico para um estudo filogenético mais compreensivo do clado, com grande amostragem em nível específico (capítulo 2).

Capítulo 2. Neste capítulo inferimos a filogenia do clado “*Adenocalymma-Neojobertia*” utilizando, os seguintes dados: (i) Os 10 plastomas completos de representantes do clado “*Adenocalymma-Neojobertia*” apresentados no capítulo anterior; (ii) 33 novos

plastomas quase-completos gerados para o clado; (iii) sete novos plastomas de membros do grupo externo; (iv) Sequências Sanger das regiões plastidiais *ndhF* e *rpl32-trnL* e região nuclear *PepC* para 45 espécimes. Esta amostragem totalizou 88 indivíduos e 67 espécies de *Adenocalymma* e *Neojobertia*. Além do estudo filogenético, um estudo de evolução morfológica também foi conduzido utilizando ferramentas comparativas, visando um melhor entendimento dos padrões de evolução no grupo.

Capítulo 3. Este capítulo foi dividido em duas partes. Na primeira parte apresentamos os trabalhos que descrevem as espécies *Adenocalymma apetiolum* e *Adenocalymma lineare*, ambas ocorrentes em florestas semi-decíduais do Espírito Santo. Na segunda parte apresentamos o trabalho que descreve a espécie *Adenocalymma cauliflorum*, que ocorre em fragmentos de mata semi-decidual no estado do Rio de Janeiro.

Capítulo 4. Neste capítulo apresentamos uma sinopse atualizada para o clado composto por *Adenocalymma* e *Neojobertia*. Nesse capítulo propomos uma nova circunscrição para *Adenocalymma*, incluindo as três espécies de *Neojobertia* e *Pleonotoma albiflora*. Além disso, revisamos a delimitação de todas as espécies do clado, o qual passa a incluir 74 espécies. Para cada espécie reconhecida, realizamos comparações morfológicas com espécies próximas, bem como apresentamos dados sobre a nomenclatura, sinonímias, distribuição e ecologia.

Referências bibliográficas

- Alcantara S.F., Lohmann L.G. 2010. Evolution of floral morphology and pollination system in Bignoniaceae (Bignoniaceae). *American Journal of Botany* 97: 782–796.
- Gentry A.H. 1973. Generic limits of Central America Bignoniaceae. *Brittonia* 25: 226–242.
- Gentry A.H., Tomb S. (1980). Taxonomic implications of Bignoniaceae palynology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 66: 756–777.
- Gentry A.H. 1990. Evolutionary patterns in Neotropical Bignoniaceae. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 118–129.
- Lohmann L.G. 2006. Untangling the phylogeny of Neotropical lianas (Bignoniaceae, Bignoniaceae). *American Journal of Botany* 93: 304–318.
- Lohmann L.G. 2010, em diante. Bignoniaceae. Em: Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>

Lohmann L.G., Ulloa Ulloa C. 2006, em diante. Bignoniaceae in iPlants prototype Checklist.
Disponível em: <http://www.iplants.org/>.<http://www.iplants.org>

Lohmann L.G., Taylor C.M. 2014. A new generic classification based on molecular phylogenetic data and morphological synapomorphies. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 99: 348–489.

Olmstead R.G., Zjhra M.L., Lohmann L.G., Grose S.O., Eckert A.J. 2009. A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. *American Journal of Botany* 96: 1731–1743.

Conclusão

Neste trabalho apresentamos uma hipótese filogenética robusta para *Adenocalymma* utilizando dados de sequenciamento de última geração (NGS) e sequenciamento Sanger. Esse é um dos primeiros trabalhos a utilizar essa abordagem em grupos de plantas neotropicais, e o primeiro a combinar dezenas de plastomas com sequências Sanger em estudos filogenéticos na família Bignoniaceae. Neste estudo também realizamos um estudo morfológico com todas as espécies reconhecidas para *Adenocalymma* e *Nejobertia*. Ao combinar a filogenia com dados morfológicos, conduzimos um estudo comparativo que visou avaliar o sinal filogenético dos dados, sua implicação durante eventos de cladogenese e seus estados ancestrais. Através destas análises, recuperamos 19 caracteres com sinal filogenético significativo, e cinco sinapomorfias morfológicas. Entre as sinapomorfias morfológicas está a presença de pecíolos e pecíolulos articulados, a qual representa uma sinapomorfia para o clado “*Adenocalymma-Nejobertia*” como um todo. Entre os caracteres com ausência de sinal filogenético, chama atenção o hábito, caráter bastante plástico, assim como diversos caracteres florais. Em particular, forma da corola, cor da corola e a presença de tricomas cupulares na corola evoluíram múltiplas vezes dentro do clado e possuem um modo pontuado de evolução. Em outras palavras, a transição dos estados não está correlacionada aos ramos da filogenia e ocorreram durante eventos de cladogenese. A filogenia e o estudo morfológico também foram utilizados como subsídio para uma nova circunscrição de *Adenocalymma*, a qual inclui as três espécies de *Nejobertia* reconhecidas e *Pleonotoma albiflora*. Os limites das espécies foram revistos com base em novas evidências morfológicas, levando a mudanças significativas na taxonomia do clado, o qual passou a incluir 74 espécies, ao invés das 85 espécies reconhecidas no sistema anterior. A filogenia e sinopse de *Adenocalymma* tornam este grupo um excelente modelo para estudos futuros. Podemos destacar a necessidade da inclusão de dados nucleares para obtermos um filogenia ainda mais bem resolvida e acurada para o grupo. Os dados de distribuição das espécies aqui obtidos também serão utilizados em conjunto com uma hipótese filogenética mais acurada para estudar a história biogeográfica e de diversificação do gênero. Estes dados também irão subsidiar uma revisão taxonômica para todas as espécies reconhecidas e a proposição de uma classificação infra-genérica que facilitará a identificação dos taxa. O estudo morfológico aqui conduzido levantou hipóteses sobre a diversificação de *Adenocalymma* que poderão ser refinadas com novos dados morfológicos contínuos e uma topologia mais acurada. Estudos ecológicos, baseados em novos dados de campo, também serão importantes para testar as hipóteses aqui levantadas.