

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS ALGAS E
PLANTAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA UFSC

CURSO DE DOUTORADO

Revisão taxonômica e filogenia do clado de *Myrcia amazonica* DC. (Myrtaceae)

Linha de Pesquisa PPGFAP – Sistemática e Biologia Estrutural

1. RESUMO

Myrtaceae é uma das famílias de angiospermas com maior número de espécies arbóreas na Floresta Atlântica e no Cerrado. Estes dois domínios fitogeográficos são considerados internacionalmente com *hotspots* para conservação da biodiversidade. Em muitos estudos florísticos são observadas espécies indeterminadas de Myrtaceae devido à dificuldade de observação de alguns caracteres. Revisões taxonômicas que possam identificar características morfológicas mais evidentes e relacionadas com grupos naturais são, portanto, de grande valor. Tal abordagem é especialmente necessária para os dois gêneros mais diversos e sistematicamente complexos da família na região neotropical: *Eugenia* e *Myrcia* s.l. *Myrcia* s.l. é um grupo monofilético com aproximadamente 750 espécies, e um dos maiores gêneros de angiospermas com espécies exclusivamente neotropicais. Ecologicamente *Myrcia* s.l. é importante na base de sustentação dos ecossistemas na Mata Atlântica e no Cerrado servindo de alimento para animais. O gênero é usado como marcador da diversidade de espécies arbóreas em geral, o que permite estimativas ecológicas e de conservação. *Myrcia* s.l. é também muito diverso na Floresta Amazônica. Portanto, uma compreensão da sistemática do grupo pode ser uma ferramenta importante para o manejo ambiental. Evidências morfológicas e moleculares justificam a subdivisão de *Myrcia* s.l. em nove clados coesos e um desses clados é *Myrcia* seção *Aulomyrcia*, com aproximadamente 120 espécies. Um dos clados desta seção é o clado de *Myrcia amazonica*, com ca. 23 espécies, principalmente da Mata Atlântica, com algumas espécies da Bacia Amazônica. Este projeto tem como alvo revisar a taxonomia do clado de *Myrcia amazonica* e desenvolver análises filogenéticas do grupo que incluam o maior número possível de espécies, visando contribuir para a revisão da taxonomia da seção *Aulomyrcia*, um dos três clados com mais de 100 espécies na filogenia de *Myrcia* s.l.

2. INTRODUÇÃO

2.1 Myrtaceae

Myrtaceae Juss. aparece como a família mais rica ou uma das mais ricas em espécies arbóreas em muitos trabalhos abordando a composição florística da Mata Atlântica (MORI et al., 1983; FALKENBERG & VOLTOLINI, 1995; KOEHLER et al., 2002; FALKENBERG, 2003; MARTINI et al., 2007; PEREIRA-SILVA et al., 2007; MEIRELES et al., 2008; MARTINS-RAMOS et al., 2011; HIGUCHI et al., 2012). Segundo Oliveira-Filho & Fontes (2000), Myrtaceae é a família mais rica em espécies arbóreas no Cerrado.

Esta família é composta por 142 gêneros e mais de 5500 espécies (WILSON, 2011). Apresenta distribuição pantropical com extensões para zonas subtropicais e temperadas, entretanto a família ocorre predominantemente no hemisfério sul do planeta, nos continentes que formaram a Gondwana (THORNHILL et al., 2015). No Brasil, Myrtaceae é representada por 23 gêneros e 1025 espécies (FLORA DO BRASIL 2020). Algumas espécies de Myrtaceae são bem conhecidas pelo seu uso humano: o cravo-da-índia *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry, a pitanga *Eugenia uniflora* L., a goiaba *Psidium guajava* L., a jabuticaba *Plinia cauliflora* (Mart.) O. Berg. e espécies de *Eucalyptus* L'Hér. como fonte de madeira e pelo valor aromático.

Características importantes da família são ritidoma escamante, tricomas simples com uma ou duas células, folhas com margens inteiras e com glândulas pelúcidas, ovários semi-ínferos e ínferos, geralmente estames numerosos, floema interno, pontoações guarnecidas no xilema e presença de terpenos como metabólitos secundários (WILSON et al., 2001).

De acordo com Wilson et al. (2005), Myrtaceae é constituída por duas subfamílias, Psiloxylloideae (com dois gêneros monotípicos, *Psiloxylon* Thouars. ex Tul. e *Heteropyxis* Harv.) e Myrtoideae (com todos os outros gêneros de Myrtaceae). Myrtoideae é composta por 15 tribos, uma das quais, Myrteae, inclui todas as espécies de Myrtaceae com exceção da espécie chilena *Metrosideros stipularis* (Hook. & Arn.) Hook. f. de Metrosidereae (MCVAUGH, 1968; LUCAS et al., 2005). Myrteae é constituída exclusivamente por Myrtaceae de frutos carnosos, com 51 gêneros e ca. 2,500 espécies (LUCAS et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2017), os quais foram subdivididos em três tribos Myrtinae O.Berg, Myrciinae O.Berg, and Eugeniinae O.Berg baseados em características do embrião (CANDOLLE, 1927). Estas subtribos foram inicialmente estudadas por Berg (1855, 1856a, 1856b, 1857, 1858, 1859) e muito aceitas até que análises filogenéticas baseadas em dados moleculares mostraram que elas são polifiléticas (LUCAS et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2017).

Em vários estudos de florística no Brasil observa-se a presença de espécies indeterminadas de Myrtaceae (KOEHLER et al., 2002; MARTINI et al., 2007; PEREIRA-SILVA et al., 2007; MEIRELLES et al., 2008). As espécies da família apresentam caracteres difíceis de serem percebidos até que se tenha maior experiência e treinamento para detectar suas diferenças, como por exemplo o formato das bractéolas, o formato dos lobos do cálice, o tipo do embrião e a presença, tipo e local do indumento. Revisões taxonômicas que identifiquem características morfológicas mais evidentes relacionadas a grupos naturais são, portanto, desejáveis para facilitar a identificação das espécies dessa família por não

especialistas. Tal abordagem é especialmente necessária nos dois gêneros mais diversos e sistematicamente complexos da tribo Myrteae, *Eugenia* L. e *Myrcia* DC. (LUCAS et al. 2007).

Myrcia sensu lato inclui *Gomidesia* O. Berg, *Marlierea* Cambess., *Calyptranthes* Sw., junto com *Myrcia* s.s. (LUCAS et al., 2011; WILSON et al., 2016). *Myrcia* s.l. (*sensu* LUCAS et al., 2011) é um grupo monofilético com cerca de 750 espécies, configurando entre os maiores gêneros de angiospermas com espécies exclusivamente neotropicais (WORLD CHECKLIST OF SELECTED PLANT FAMILIES[WCSP], 2016). Esse grupo era anteriormente conhecido como a subtribo Myrciinae quando se exclui *Myrceugenia* (BERG, 1855, MCVAUGH, 1968). Lucas & Sobral (2011), justificaram porque usar *Myrcia* ao invés de *Calyptranthes*, mesmo este último sendo mais antigo, para combinar os quatro gêneros tradicionais em um gênero *Myrcia* mais inclusivo.

As relações filogenéticas dentro de *Myrcia* s.l. foram reconstruídas por inferência Bayesiana e parcimônia, de quatro regiões plastidiais (*psbA-trnH*, *trnL*, *trnL-F* and *matK*), e uma região do núcleo: ITS. A hipótese filogenética foi avaliada em conjunto com caracteres morfológicos e fatores abióticos e justificaram a subdivisão de *Myrcia* s.l. em nove clados coesos (LUCAS et al., 2011), os quais estão em vias de oficialização com seções formais do gênero (LUCAS et al., in prep.). Dentro dessa estrutura, um dos nove clados da filogenia (“clado 9” na classificação de LUCAS et al., 2011) corresponde a *Myrcia* seção *Aulomyrcia* (O. Berg) Griseb. O clado 9 é o maior dentro da filogenia de Lucas et al. 2011 e inclui 23 espécies. O clado 9 contém espécies de *Marlierea*, de *Myrcia* que pertencem à *Aulomyrcia sensu* Berg e outras espécies descritas mais recentemente.

2.2 *Myrcia* seção *Aulomyrcia* (O. Berg) Griseb.

Aulomyrcia foi inicialmente publicada como um gênero por Otto Berg (1855). Posteriormente foi reconhecido como uma seção de *Myrcia* (GRISEBACH, 1864; KIAERSKOU, 1893; MCVAUGH, 1968) e como subgênero (NIEDENZU, 1893; LEGRAND, 1961). *Myrcia* seção *Aulomyrcia* atualmente corresponde a 121 espécies originalmente pertencentes a *Myrcia*, *Marlierea* e *Calyptranthes* (LUCAS et al., 2016). Morfológicamente as espécies da seção se distingue das demais de *Myrcia* s.l. por apresentarem folhas geralmente verticiladas, brácteas subflorais persistentes, inflorescências terminais frequentemente assimétricas, lobos do cálice (4-)5, perenes no fruto, eretos, ovário bilocular, hipanto levemente estendido além do ápice do ovário, podendo rasgar-se na antese, disco levemente convexo, com um fino anel de estames (LUCAS et al. 2016).

Staggemeier et al. (2015) revisitaram as relações filogenéticas de *Aulomyrcia*, amostrando 53 táxons desta seção e 40 grupos externos. Destas análises emergiram seis clados chamados informalmente pelas letras A a G. O primeiro grupo de *Aulomyrcia* inclui os clados A, B e C, constituídos por espécies da Bacia Amazônica e do Nordeste na Mata Atlântica. O segundo grupo inclui os clados D a G, composto por espécies principalmente da Mata Atlântica. Os clados F e G aparecem como grupos-irmãos. O clado F corresponde a aproximadamente 15 espécies, que em sua maioria ocorrem na Mata Atlântica, porém algumas são endêmicas da Amazônia, como *Myrcia speciosa* (Amshoff) McVaugh (STAGGEMEIER et al. 2015; LUCAS et al. 2016). Espécies deste grupo se caracterizam por possuírem folhas grandes, coriáceas e verticiladas, pelas longas inflorescências terminais, também verticiladas (LUCAS et al. 2016). O clado G corresponde a aproximadamente oito espécies do complexo *Myrcia amazonica* DC. distribuídas principalmente na Mata Atlântica (STAGGEMEIER et al. 2015, LUCAS et al. 2016), cujas características diagnósticas são o indumento avermelhado turvo e os lobos do cálice internamente glabros (LUCAS et al. 2016). Os clados F e G serão chamados daqui para a frente de clado de *Myrcia amazonica*, por ser uma das espécies mais antigas e conhecidas do grupo.

Embora já exista o trabalho de Lucas et al. (2016), o qual é um conspecto de *Myrcia* sect. *Aulomyrcia*, ainda há necessidade de desenvolver trabalho monográfico mais completo e aprofundado com as espécies da seção. Como *Aulomyrcia* contém 121 espécies, seria difícil dentro de um projeto de doutorado de quatro anos desenvolver uma revisão taxonômica aprofundada de todas as espécies da seção, desenvolvendo descrições, tipificações, e sinonimizações necessárias e a inclusão de espécies novas. Por este motivo o presente trabalho se concentrará na revisão do clado de *Myrcia amazonica*.

No Royal Botanic Gardens – Kew (RBGK) existe um projeto de mais de 10 anos sobre a filogenia e evolução de *Myrcia* s.l. e sua relação com o meio ambiente. Um estudo filogenético que inclua o maior número possível de espécies do clado de *Myrcia amazonica* visa contribuir para o entendimento das relações da seção *Aulomyrcia*, um dos três clados com mais de 100 espécies na filogenia de *Myrcia* s.l. (clado de *Myrcia guianensis* e *Myrcia* seção *Myrcia*, ambos com estudos em andamento).

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Realizar a revisão taxonômica do clado de *Myrcia amazonica* de *Myrcia* seção *Aulomyrcia*. Realizar análises filogenéticas deste clado incluindo espécies que não fizeram parte da filogenia de Staggemeier et al. 2015.

3.2 Específicos

- a) Desenvolver trabalho de campo para coletar o maior número de espécies possível do clado de *Myrcia amazonica* ao longo da Mata Atlântica e possivelmente na Bacia Amazônica.
- b) Como parte da revisão taxonômica do clado de *Myrcia amazonica*, pretendo completar a tipificação das espécies, descrevê-las, propor sinonimizadas necessárias e incluir possíveis novas espécies.
- c) Fazer estudo filogenético do clado de *Myrcia amazonica* preenchendo lacunas com espécies ainda não incluídas na filogenia para entender as relações dentro do grupo e com outros grupos da seção *Aulomyrcia* e outros clados de *Myrcia* s.l.
- d) A reconstrução de alguns caracteres morfológicos selecionados será investigada ao longo da árvore de melhor resolução.

4. HIPÓTESES DE TRABALHO E PREDIÇÕES QUE SERÃO TESTADAS.

Pretende-se testar a hipótese de monofilia do clado de *Myrcia amazonica*. Pretende-se circunscrever oficialmente o clado de *Myrcia amazonica* como uma subseção de *Myrcia* seção *Aulomyrcia*.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Coletas e tratamento taxonômico

Serão coletados materiais do maior número possível de espécies do clado de *Myrcia amazonica* na Mata Atlântica e na Amazônia. O GPS será utilizado para registrar as coordenadas geográficas e altitude do local de ocorrência dos espécimes. Amostras férteis e vegetativas serão coletadas. O esforço de coleta será intenso nos meses entre setembro e fevereiro, quando as plantas apresentam material fértil em maior abundância. Folhas, flores e frutos serão preservados em etanol 70% para análise morfológica. Fragmentos de folhas serão

conservados em sílica-gel para as análises moleculares. Os materiais coletados serão devidamente herborizados e depositados no herbário FLOR. O tratamento taxonômico devido será desempenhado com identificação dos espécimes a partir de literatura especializada (CANDOLLE, 1828; CAMBESSÈDES, 1833; BERG, 1855, 1856a, 1856b, 1857, 1858-1859; KIAERSKOU, 1893; LANDRUM & KAWASAKI, 1997; LEGRAND, 1962a, 1962b, LEGRAND & KLEIN, 1969, 1971a, 1971b; SOBRAL, 2003; LUCAS et al., 2016; FLORA DO BRASIL, 2020, WORLD CHECKLIST OF SELECTED PLANT FAMILIES (WCSP), 2016). Serão produzidas descrições e ilustrações, chaves de identificação, mapas de distribuição geográfica e comentários acerca da distribuição geográfica, aspectos ecológicos e taxonômicos das espécies.

Serão realizadas visitas e pedidos de empréstimo de materiais dos seguintes herbários: ALCB, BHCB, BM, C, CEPEC, F, G, HAS, HBR, HRCB, HUAM, HUEFS, ICN, INPA, K, LE, M, MBM, MBML, MICH, MO, NY, P, PACA, R, RB, S, SP, SPF, UB, UEC, US, UPCB e VIES, W. Os acrônimos dos herbários estão de acordo com Thiers (atualizado continuamente). Quando as exsicatas não puderam ser emprestadas, a análise comparativa será realizada com os dados disponíveis em plataformas *online* dos herbários.

5.2 Amostragem, Extração de DNA, Amplificação por PCR e Sequenciamento de DNA

Espécies do clado de *Myrcia amazonica* não incluídas na filogenia de Staggemeier et al. (2015) serão incluídas baseado-se no *conspectus* de Lucas et al. 2016 e em caracteres diagnósticos apontados nesses dois estudos. Staggemeier et al. (2015) amostraram 55 espécies da seção *Aulomyrcia*, dentre as quais 13 pertencem ao clado de *Myrcia amazônica*. Mais de um representante de algumas espécies poderão ser incluídos para representar sua variabilidade morfológica e distribuição geográfica. Nas análises serão incluídas algumas espécies de cada clado de *Myrcia* s.l. conforme Lucas et al. (2011) e dos outros grupos da seção *Aulomyrcia* conforme Staggemeier et al. (2015) para investigar as relações filogenéticas de outros grupos com o clado de *Myrcia amazonica*. Alguns táxons de Myrtaceae fora de *Myrcia* s.l. serão incluídos nas análises. Estudos de filogenética molecular no RBGK dentro desse projeto resultaram no acesso ao DNA de c. 200 espécies de *Myrcia* s.l. Esses resultados encontram-se à disposição para o presente estudo bem como c. 50 espécies ainda não sequenciadas presentes na coleção de tecidos da instituição. Seria possível incluir nas análises filogenéticas do clado *Myrcia amazonica* outras espécies de *Myrcia* s.l., usando estes dados disponíveis, para situar o grupo dentro da filogenia do gênero.

O DNA total de cada amostra será extraído de aproximadamente 0.3 g de tecido da folha seca em sílica-gel, de acordo com os protocolos de Lucas et al. (2007) ou de Doyle & Doyle (1987) adaptado. Serão amplificadas as regiões de DNA já utilizadas no trabalho de Staggemeier et al. (2015) e Santos et al. (2016) com os *primers* lá indicados: ITS (SUN et al., 1994) do DNA nuclear ribossomal e *ndhF* (BIFFIN et al., 2006), *psbA-trnH* (HAMILTON, 1999), *trnL-trnF* (TABERLET et al., 1991) e *trnQ-rps16* (MURILLO-A et al. 2012) do DNA plastidial. Os programas de amplificação seguirão Santos et al. (2016). A purificação dos produtos da PCR seguirá Lucas et al. (2007). Reações de sequenciamento serão conduzidas utilizando os mesmos *primers* da amplificação, e as duas fitas serão sequenciadas para aumentar a confiabilidade da leitura.

5.3 Análises filogenéticas

As sequências serão visualizadas, editadas e agrupadas usando o programa Geneious v.6.1.6 (DRUMMOND et al. 2013). O alinhamento das sequências será realizado utilizando-se *softwares* como MUSCLE v.3.6 (EDGAR, 2004) e MAFFT (KATO et al., 2002). Modelos de substituição de nucleotídeos serão testados usando jModelTest 2 (GUINDON & GASCUEL, 2003; DARRIBA et al., 2012). Os dados serão analisados por inferência Bayesiana usando Mr. Bayes v.3.2.2 (HUELSENBECK & RONQUIST, 2001; RONQUIST et al. 2012) e por Máxima Verossimilhança usando RAxML v.8.2.4 (STAMATAKIS, 2006), ambas análises por meio da interface CIPRES (MILLER et al. 2010). As análises Bayesianas serão conduzidas usando quatro cadeias de Markov-Monte Carlo, com dez milhões de gerações e uma frequência amostral de 1000 árvores. Os resultados da análise bayesiana serão examinados no Tracer v.1.6 (RAMBAUT et al. 2014) para assegurar convergência e suficiência amostral. Probabilidades posteriores acima de 0.95 serão consideradas significantes. A análise de Máxima Verossimilhança será realizada usando estratégia de *rapid bootstrap*. As categorias de suporte de bootstrap seguirão Chase et al. (2000). As árvores serão visualizadas e editadas com FigTree v.1.4.3 (RAMBAUT, 2016). Serão conduzidas análises independentes e combinadas entre os marcadores nucleares e plastidiais.

5.4 Reconstrução de caracteres

Será desenvolvida a reconstrução de caracteres morfológicos selecionados para entender a evolução destes dentro do clado de *Myrcia amazonica*. Os caracteres e estados de caráter que serão considerados para a reconstrução são aqueles usados para definir os clados de *Myrcia* s.l de Lucas et al. (2011) e aqueles da seção *Aulomyrcia* e do clado de *Myrcia amazonica*

de Staggemeier et al. (2015) e Lucas et al. (2016). Os dados morfológicos para cada espécie serão obtidos através da análise de espécimes coletados e espécimes das coleções dos herbários. Serão analisados no mínimo cinco espécimes de cada espécie para constatar possível variação do caráter na espécie. Serão construídas matrizes com os caracteres e estados de caráter para cada espécie. Os caracteres selecionados serão otimizados na árvore resultante das análises que tenha as relações mais bem resolvidas, usando Mesquite 3.2 (Maddison & Maddison, 2017), usando algoritmos de Parcimônia e Máxima Verossimilhança.

6. RESULTADOS ESPERADOS

Espera-se divulgar a revisão taxonômica do clado de *Myrcia amazonica* na forma de artigo científico a ser publicado possivelmente em um dos seguintes periódicos: Systematic Botany, Phytotaxa, ou Annals of the Missouri Botanical Garden.

Possivelmente serão encontradas espécies novas pertencentes a este clado que serão divulgadas por meio de artigo científico no periódico Phytotaxa ou Systematic Botany.

Pretende-se obter um filogenia bem resolvida do clado de *Myrcia amazonica* e possivelmente circunscrever esse grupo como uma subseção oficial a ser divulgada como artigo científico em um dos seguintes periódicos: Taxon ou Molecular Phylogenetics and Evolution.

7. ORÇAMENTO

Pretende-se desenvolver o presente projeto em parceria com o RBGK e possivelmente desenvolver parte do projeto nesta instituição na forma de um doutorado sanduíche. Sendo assim, parte do financiamento do projeto como as metodologias moleculares e algumas saídas de campo seriam feitas com recursos do RBGK, dentro do projeto Filogenia de *Myrcia* s.l. liderado pela pesquisadora Dr. Eve Lucas.

Pretende-se também buscar financiamento concorrendo a *grants* para estudantes de pós-graduação da American Society of Plant Taxonomists e International Association for Plant Taxonomy.

7.1 Síntese dos valores

Descrição dos itens	Quantidade	Valor unitário (R\$)	Valor total (R\$)
Material de consumo e Sequenciamento			15.000,00
Gasolina	1000L (12000 km)	3,70	3.358,00
Hospedagem	~30 (diárias)	50,00	1.690,00
Alimentação	~30 dias (3 refeições)	30,00	900,00
Passagens Aéreas			2000
TOTAL			22.948,00

8. CRONOGRAMA DE ATIVIDADES TRIMESTRAL

Trimestres	Ano 1 Agosto/2017 a Julho/2018				Ano 2 Agosto/2018 a Julho/2019				Ano 3 Agosto/2019 a Julho/2020				Ano 4 Agosto/2020 a Julho/2021			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Disciplinas e estágios obrigatórios	X	X	X	X	X	X										
Revisão bibliográfica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Coletas de novos espécimes	X	X	X		X	X	X									
Revisão de materiais de herbários	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X						
Revisão Taxonômica	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X				
Análises moleculares e filogenéticas							X	X	X	X	X	X				
Reconstrução de caracteres									X	X	X	X	X			
Exame de qualificação								X								
Preparação de manuscritos													X	X	X	X
Entrega e defesa da tese																X

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERG. O. Revisio Myrtacearum Americae. **Linnaea**, v. 27, p. 1-128. 1855.

BERG. O. Revisio Myrtacearum Americae. **Linnaea**, v. 27, p. 129-384. 1856a.

BERG. O. Revisio Myrtacearum Americae. **Linnaea**, v. 27, p. 385-512. 1856b.

BERG. O. Myrtaceae. In: MARTIUS, C. P. F. (ed.) **Flora Brasiliensis**. 1857. v. 14, p. 1-468.

BERG. O. Myrtaceae. In: MARTIUS, C. P. F. (ed.) **Flora Brasiliensis**. 1858-1859. v. 14, p. 469-556.

BIFFIN, E. et al. Molecular systematics of *Syzygium* and allied genera (Myrtaceae): Evidence from the chloroplast genome. *Taxon*, v. 55, p. 79-94. 2006.

CAMBESSÈDES, J. Marlierea. In: SAINT-HILAIRE, A. F. C. de. **Flora Brasiliae Meridionalis**. A Belin, Paris, 1833. v. 2, p. 373–375.

CANDOLLE, A. P. de. **Dictionnaire classique d'histoire naturelle**. Rey et Gravier, Paris. 1827. vol. 11.

CANDOLLE A. P. de. Myrtaceae. In: CANDOLLE, A. P. de. (ed.) **Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis**. Treuttel & Würtz, Paris, 1828. v. 3, p. 207–296.

DARRIBA, D. et al. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. **Nature Methods** v. 9, n. 8, p. 772. 2012.

DRUMMOND, A. J. et al. Geneious, version 6.1.6. Program distributed by Biomatters Limited. <http://www.geneious.com>. 2013.

EDGAR, R. C. MUSCLE: A multiple sequence alignment method with reduced time and space complexity. **B. M. C. Bioinformatics**, v. 5, p. 113. 2004.

FALKENBERG, D. B. & VOLTOLINI, J. C. The Montane Cloud Forest in Southern Brazil. In: HAMILTON, L. S.; JUVIK, J. O. & SCATEN, F. N. (eds.). **Tropical montane cloud forests. Ecological Studies**. Springer Verlag, New York, 1995. v.110. p. 138-149.

FALKENBERG, D. B. **Matinhas nebulares e vegetação rupícola dos Aparados da Serra Geral (SC/RS), Sul do Brasil**. 2003. 558f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

FLORA DO BRASIL 2020 em construção. **Flora do Brasil 2020**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 10 outubro 2016

GRISEBACH, A. H. R. **Flora of the British West Indian Islands**. Lovell Reeve, London, 1864.

GUINDON, S. & GASCUEL, O. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood”. **Systematic Biology**, v. 52, p. 696-704. 2003.

HAMILTON, M. B., Four primer pairs for the amplification of chloroplast intergenic regions with intraspecific variation. **Molecular Ecology**, v. 8, p. 521-523. 1999.

HIGUCHI, P. et al. Floristic composition and phytogeography of the tree component of *Araucaria* Forest fragments in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 35, n. 2, p. 145–157. 2012.

HUELSENBECK, J. P., & RONQUIST, F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. **Bioinformatics**, v. 17, p. 754-755. 2001.

KATO, K. et al. MAFFT: A novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. **Nucleic Acid Research**, v. 30, n. 14, p. 3059-3066. 2002.

KIAERSKOU, H. Enumeratio Myrtacearum Brasiliensium. In: WARMING, E. (ed.), **Symbolarum ad floram Brasiliae centralis cognoscendam** J. Gjellerup, Copenhagen. 1893. v. 39, p. 1—200.

KOEHLER, A.; GALVÃO, F. & LONGHI, S. J. Floresta ombrófila densa altomontana: aspectos florísticos e estruturais de diferentes trechos na Serra do Mar, PR. **Ciência Florestal, Santa Maria**, v. 12, n. 2, p. 27–39. 2002.

LANDRUM, L. R. & KAWASAKI, M. L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia** v. 49, n. 4, 508–536. 1997.

LEGRAND, C. D. Mirtáceas del Estado de Santa Catarina (Brasil). **Sellowia**, v. 13, p. 265--363. 1961.

LEGRAND, C. D. El genero *Calyptranthes* en el Brasil austral. **Lilloa**, v. 31, p. 183–206. 1962a

LEGRAND, C. D. Sinopsis de las especies de Marlierea del Brasil. **Comunicaciones Botánicas del Museo de Historia Natural de Montevideo**, v. 3, p. 1–39. 1962b.

LEGRAND, C. D. & KLEIN, R. M. Mirtáceas: *Myrcia*. In: REITZ, R. (org.). **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí, 1969. p. 217-330.

LEGRAND, C. D. & KLEIN, R. M. Mirtáceas: *Marlierea*. In: Reitz, R. (org.). **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí, 1971a. p. 455-488.

LEGRAND, C. D. & KLEIN, R. M. Mirtáceas: *Calyptranthes*. In: Reitz, R. (org.). **Flora Ilustrada Catarinense**. Itajaí, 1971b. p. 489-552.

LUCAS, E. J. & SOBRAL, M. Proposal to conserve the name *Myrcia* against *Calyptranthes* (Myrtaceae). **Taxon** v. 60, n. 2, p. 605. Abr. 2011.

LUCAS, E. et al. Phylogenetic patterns in the fleshy-fruited Myrtaceae - preliminary molecular evidence. **Plant Systematics and Evolution**, v. 251, p. 35–51. 2005.

LUCAS, E. et al. Suprageneric phylogenetics of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (Myrtales). **Taxon**, v. 56, n. 4, p. 1105–1128. Nov. 2007.

LUCAS, E. et al. Phylogenetics, morphology and evolution of the large genus *Myrcia* s.l. (Myrtaceae). **International Journal of Plant Sciences**, v. 172, n. 7, p. 915-934. Set. 2011.

LUCAS, E. et al. A conspectus of *Myrcia* sect. *Aulomyrcia* (Myrtaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 101, n. 4, p. 648-698. 2016.

LUCAS et al. A new infra-generic classification of the species-rich Neotropical genus *Myrcia* s.l. in prep.

MADDISON, W. P. & MADDISON, D. R., Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.2. 2017

MARTINI, A. M. Z. et al. A hot-point within a hot-spot: a high diversity site in Brazil's Atlantic Forest. **Biodiversity and Conservation**, v. 16, n. 11, p. 3111–3128, 2007.

MARTINS-RAMOS, D. et al. Florística de floresta ombrófila mista altomontana e de campos em Urupema, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Biosciências**, v. 9, n. 2, p. 156–166. 2011.

MCVAUGH, R. The genera of american Myrtaceae: an interim report. **Taxon**, v. 17, n. 4, p. 354–418. Ago. 1968.

MEIRELES, L. D.; SHEPHERD, G. J. & KINOSHITA, L. S. Variações na composição florística e na estrutura fitossociológica de uma floresta ombrófila densa alto-montana na Serra da Mantiqueira, Monte Verde, MG. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, n. 4, p. 559–574. 2008.

MILLER, M. A., PFEIFFER, W., & SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. **Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)**. 14 Nov. 2010. New Orleans, LA, p. 1-8. 2010.

MORI, S. A. et al. Ecological Importance of Myrtaceae in an Eastern Brazilian Wet Forest. **Biotropica**, v.15, n. 1 . p. 68-70. mar. 1983.

- MURILLO-A., J. et al. Phylogenetic relationships in *Myrceugenia* (Myrtaceae) based on plastid and nuclear DNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 62, p. 764-776. 2012.
- NIEDENZU, F. Myrtaceae. In: ENGLER, A. & PRANTL, K. (eds), **Die natürlichen Pflanzenfamilien**. Engelmann, Leipzig, 1893. v. 3, p. 57—105.
- OLIVEIRA-FILHO, A. T. & FONTES, M. A. L. Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in Southeastern Brazil and the influence of climate. **Biotropica**, v. 32, n. 4b, p. 793–810. 2000.
- PEREIRA-SILVA, E. F. L.; HARDT, E. & FRANCISCO, C. E. da S. Caracterização Florística da Vegetação Lenhosa de um Fragmento Urbano de Floresta Ombrófila Mista Alto Montana, Campos do Jordão, SP. **HOLOS Environment**, v. 7, n. 2, p. 154–170. 2007.
- RAMBAUT, A. et al. Tracer v1.6. Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>. 2014.
- RAMBAUT, A. FigTree v1.4.3. Available from <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/> 2016
- RONQUIST, F. et al. Mr.Bayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Systematic Biology**.v. 61, p. 539-542. 2012.
- SANTOS, M. F. et al. Phylogeny, morphology and circumscription of *Myrcia* sect. *Sympodiomyrcia* (*Myrcia* s.l., Myrtaceae). **Taxon**, v. 65, n. 4, p. 759-774. 2016
- SOBRAL, M. **A família Myrtaceae no Rio Grande do Sul**. Editora UNISINOS, São Leopoldo, 2003.
- STAGGEMEIER, V. G. et al. Phylogenetic analysis in *Myrcia* section *Aulomyrcia* and inferences on plant diversity in the Atlantic rainforest. **Annals of Botany**, v. 115, p. 747-761. 2015.
- STAMATAKIS A. RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. **Bioinformatics** v. 22, p. 2688-2690. 2006

SUN, Y. et al. Phylogenetic analyses of *Sorghum* and related taxa using internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 89, p. 26-32. 1994.

TABERLET, P. et al. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. **Plant Molecular Biology**, v. 17, p. 1105-1109. 1991

THIERS, B. (continuously updated) Index Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff. *New York Botanical Garden's Virtual Herbarium*. Disponível em: <<http://sweetgum.nybg.org/ih/>>. Acessado em 6 Outubro 2016.

THORNHILL, A. H. et al. Interpreting the modern distribution of Myrtaceae using a dated molecular phylogeny. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 93, p. 29–43. 2015.

VASCONCELOS, T. N. et al. Myrteae phylogeny, calibration, biogeography and diversification patterns: Increased understanding in the most species rich tribe of Myrtaceae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 109, p. 113-137. 2017

WILSON, C. E. et al. Phylogenetic Relationships in *Calyptranthes* (Myrtaceae) with particular emphasis on its monophyly relative to *Myrcia* s. l. **Systematic Botany**, v. 41, n. 2, p. 378—386. 2016.

WILSON, P. G. et al. Myrtaceae revisited: A Reassessment of Intrafamilial Groups. **American Journal of Botany**, v. 88, n. 11, p. 2013–2025. nov. 2001.

WILSON, P. G. et al. Relationships within Myrtaceae sensu lato based on a matK phylogeny. **Plant Systematics and Evolution**, v. 251, p. 3–19. 2005.

WILSON, P. G. Myrtaceae. In: Kubitzki, K. (ed.). **The families and genera of vascular plants, Flowering Plants, Eudicots, Sapindales, Cucurbitales, Myrtaceae**. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 2011. v. X, p. 212-271.

WORLD CHECKLIST OF SELECTED PLANT FAMILIES (WCSP). **World Checklist of Selected Plant Families** Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <http://apps.kew.org/wcsp/> Acessado em 06 Outubro 2016.