

Filogenia da tribo Pisonieae Meisn. (Nyctaginaceae): Delimitação genérica e evolução de caracteres morfológicos

Aluno: Elson Felipe Sandoli Rossetto

Orientador: Prof. Dr. José Eduardo Lahoz da Silva Ribeiro

Londrina

2013

RESUMO

Nyctaginaceae Juss., é uma família de distribuição pantropical, inserida na ordem Caryophyllales, sendo caracterizada pelo antocarpo, estrutura derivada do fruto tipo aquênio e da região basal do cálice. Esta família está dividida em sete tribos, entre elas, a tribo Pisonieae Meisn., cujas espécies são dióicas, com flores funcionalmente unissexuadas, além do embrião não curvado (reto). A tribo Pisonieae possui seis gêneros, sendo *Guapira*, *Neea* e *Pisonia* os gêneros com maior número de espécies. Todos os gêneros tem distribuição restrita aos Neotrópicos, com exceção de *Pisonia*, cuja distribuição também se estende a áreas tropicais do Velho Mundo. Esta tribo tem chamado a atenção dos botânicos pela grande semelhança morfológica de suas espécies, dificultando a sistemática tradicional em propor uma circunscrição estável dos seus principais gêneros. O primeiro problema reside na delimitação dos gêneros *Guapira* e *Neea*, cujas espécies possuem antocarpos carnosos. Embora sejam tratados como distintos na sistemática tradicional, a semelhança morfológica entre esses gêneros presume que *Guapira* e *Neea* não sejam grupos naturais. O segundoproblema está na circunscrição de *Pisonia*, ainda não estando claro se as espécies com antocarpos sem glândulas provenientes do Velho Mundo estejam relacionadas com as espécies com antocarpos glandulosos do Velho Mundo e dos Neotrópicos ou, se na realidade formam um grupo distinto. A reconstrução filogenética da tribo poderia resolver esses dois problemas, e a única já realizada utilizou uma amostragem insuficiente de espécies para resolver a delimitação dos principais gêneros de Pisonieae. Desta forma, este projeto pretende reconstruir a filogenia da tribo Pisonieae com uma maior amostragem de espécies de *Guapira* e *Neea*, além de utilizar espécies de *Pisonia* provenientes tanto dos Neotrópicos quanto do Velho Mundo, e reconstruir os estados ancestrais dos caracteres morfológicos dessas espécies. A filogenia molecular será reconstruída através da análise de sequências de DNA nuclear (ITS) e do cloroplasto (rps16). Este projeto visa obter uma delimitação mais robusta dos principais gêneros de Pisonieae, baseada numa abordagem filogenética, além de detectar as sinapomorfias morfológicas para estes grupos.

1-INTRODUÇÃO

Avanços do estudo sistemático da família Nyctaginaceae

A família Nyctaginaceae Juss. compreende cerca de 400 espécies de árvores, arbustos, trepadeiras e ervas (perenes ou anuais) distribuídas em aproximadamente 30 gêneros (BRITTICH & KÜHN, 1993), e ocorrendo em áreas quentes do globo, mas com predominância no Novo Mundo, onde estão os dois centros de diversidade da família: a região árida do oeste da América do Norte e os Neotrópicos (Douglas & Spellenberg, 2010).

Embora possua uma grande diversidade de hábitos, algumas características são comuns a muitas de suas espécies, como o perianto uniseriado derivado do cálice (Bittrich & Kühn, 1993), sem apresentar, portanto, uma corola verdadeira (LEVIN, 2000), e o fruto do tipo aquênio, circundado pela região basal do cálice, formando uma estrutura chamada antocarpo (BITTRICH & KÜHN, 1993), cujas diferentes estruturas como asas, costelas e glândulas de mucilagem, são adaptativas para a dispersão.

Nyctaginaceae é parte da linhagem das Caryophyllales-núcleo (Centrospermae), um grupo há muito reconhecido como natural (Heimerl, 1934), devido, principalmente à placentação do tipo central a basal, além do óvulo campilótropo e presença de perisperma, e características de natureza embriológica, ultraestrutural e fitoquímica, como a presença de pigmentos betalaínicos, ao invés de antocianinas, e plastídeos “P”, com feixes proteicos periféricos circundando cristais proteicos globulares (Cronquist, 1988; Bittrich & Kühn, 1993).

Apesar das Caryophyllales ser um dos grupos mais estudados de angiospermas (Bittrich, 1993), e a inclusão de Nyctaginaceae nesse grupo ser um consenso entre os botânicos (Bittrich & Kühn, 1993), a delimitação de Caryophyllales e as relações de parentesco entre seus membros (inclusive Nyctaginaceae) não estavam claras até os anos 90 (Bittrich, 1993). Cronquist (1988), embora utilizando técnicas filéticas, reconheceu Nyctaginaceae como uma família basal desse grupo e relacionada à família Phytolaccaceae, devido ao seu gineceu monocarpelar. Anos depois, novos trabalhos com filogenia molecular envolvendo Caryophyllales (Downie *et al.*, 1997; Meimberg, *et al.* 2000; Savolainen *et al.*, 2000; Soltis *et al.* 2000) confirmaram uma relação próxima entre Nyctaginaceae e Phytolaccaceae, não como um clado basal, mas em um subclado das Caryophyllales- núcleo (clado da “inclusão globular”), caracterizado pela presença de cristal proteico globular no plastídeo-P (Cuénod *et al.*, 2002; Brockington *et al.*, 2009).

Os estudos sistemáticos de Nyctaginaceae foram iniciados por Choisy (1849), que a dividiu em três tribos, considerando a presença e a forma dos involúculos florais. No entanto, após uma revisão mais ampla com base em estudos do indumento do ovário, hábito da planta, forma do embrião, fusão dos estames, sexualidade da flor, ocorrência de antocarpo, estrutura do pólen, entre outras, Heimerl (1934) propôs nova classificação com uma divisão infrafamiliar em cinco tribos, Boldoeae, Colignoniae, Leucastereae, Mirabileae e Pisonieae.

Mais recentemente, Bittrich & Kühn (1993) propuseram nova classificação interna para a família, também baseada em caracteres morfológicos, com reconhecimento de seis tribos. As principais diferenças entre essa classificação e a proposta por Heimerl (1934) estão: (1) no

reconhecimento da tribo Mirabileae como Nyctagineae; (2) na criação das tribos Abronieae e Bougainvilleae (então subtribos de Mirabileae); (3) na supressão da tribo Colignonieae (inserida na categoria de subtribo de Nyctagineae); e (4) na divisão da subtribo Boerhaviinae (tribo Nyctagineae) em duas subtribos: Boerhaviinae *sensu strictu* e Nyctagininae.

O primeiro estudo filogenético de Nyctaginaceae foi publicado por Levin (2000), utilizando sequências de DNA nuclear (ITS) e de cloroplasto (*accD 5'* e região espaçadora entre *accD 5'* e *rbcL*). Esse trabalho foi bastante restrito, se limitando a elucidar relações de parentesco de espécies norte americanas dos gêneros *Acleisanthes*, *Mirabilis* e *Selinocarpus* (subtribos Nyctagininae e Boerhaavinae). Posteriormente, Douglas & Manos (2007) realizaram um estudo mais amplo com utilização de três sequências de DNA de cloroplasto (*ndhF*, *rps16* e *rpl16*) e uma de DNA nuclear (nrITS). Embora o objetivo principal desse trabalho tenha sido o estudo das relações de parentesco entre táxons xerofíticos norte-americanos da tribo Nyctagineae, foram incluídas também espécies de todas as tribos de Nyctaginaceae *sensu* Bittrich & Kühn (1993), inclusive da tribo Pisonieae. As relações de parentesco entre as tribos obtidas pelo resultado desse trabalho estão apresentadas no cladograma da figura 1. Os resultados desse estudo serviram de base para a proposta de reestruturação tribal de Douglas & Spellenberg (2010), a primeira efetuada com bases filogenéticas para Nyctaginaceae. Esses autores demonstraram que as categorias supragenéricas da família anteriormente propostas não se comportaram como grupos monofiléticos, como, por exemplo, a tribo Nyctagineae e suas subtribos. Assim, rearranjos foram realizados, como a segregação da tribo Colignonieae e a inclusão da tribo Abronieae da tribo Nyctagineae. Houve também a criação da tribo Caribeeae para abrigar o gênero *Caribea*, cujo posicionamento dentro da família permanece incerto. Foi então proposta a subdivisão da família em sete tribos, correntemente aceitas: Boldoeae Heimerl, Bougainvilleae Choisy, Caribeeae Douglas & Spellenberg, Colignonieae Standl., Leucastereae Benth. & Hook.f., Nyctagineae Horan. (sem categorias subtribais) e Pisonieae Meisn., sendo esta última objeto de estudo da presente proposta.

A tribo Pisonieae Meisn.

A tribo Pisonieae é composta por plantas lenhosas com distribuição pantropical e centro de diversidade nos Neotrópicos (Douglas & Manos, 2007). As espécies desse grupo são dióicas, com flores funcionalmente unissexuadas (exceto *Pisoniella* (Heimerl) Standl.), onde as flores possuem ambos os verticilos reprodutivos, mas em plantas masculinas e femininas, respectivamente, os carpelos e os estames são atrofiados; apresentam também, caracteristicamente, embrião não curvado (reto) (Heimerl, 1934; Bittrich & Kühn, 1993; Furlan, 1996). A delimitação taxonômica da tribo não tem sido problemática, exceto pelo posicionamento de *Pisoniella*, inicialmente inserido na tribo Pisonieae (Heimerl, 1934), posteriormente, na tribo Nyctagineae (Bittrich e Kühn, 1993) e recentemente reinserida em Pisonieae (Douglas & Spellenberg, 2010).

A tribo Pisonieae conta atualmente com sete gêneros: *Cephalotomandra* Karst. & Triana, *Grajalesia* Miranda, *Guapira* Aubl., *Neea* Ruiz & Pav., *Neeopsis* Lundell, *Pisonia* L. e *Pisoniella* (Heimerl) Standl. (Douglas & Spellenberg, 2010). Os gêneros *Guapira*, *Neea* e *Pisonia* compreendem a maioria das espécies da tribo, que contam, respectivamente, com 70, 80 e 40 espécies (Douglas & Spellenberg, 2010). Os demais gêneros são pequenos, compreendendo entre uma (*Grajalesia*, *Neeopsis* e *Pisoniella*) a três espécies (*Cephalotomandra*). Uma característica interessante de Pisonieae é a distribuição geográfica dos gêneros, quase todos restritos aos

Neotrópicos. No entanto, o gênero *Pisonia* compreende espécies tanto Neotropicais quanto do Velho Mundo, principalmente, das ilhas do Oceano Pacífico e do Índico, da Austrália e do Sudeste Asiático, sendo que a espécie *Pisonia aculeata* L. apresenta distribuição pantropical (Furlan, 1996).

No entanto, a delimitação atual desses gêneros e das espécies descritas são duvidosas devido à grande semelhança morfológica entre as espécies (Furlan, 1996), e também pela amostragem desproporcional de plantas estaminadas e pistiladas presente nos acervos dos herbários (Furlan, 1996; Douglas & Manos, 2007). Esses dois fatores implicam na dificuldade da identificação de caracteres diagnósticos para os gêneros na incerteza quanto à monofilia desses grupos, além de acarretar na descrição de binômios inválidos, por terem sido propostos a partir de análise de material incompleto, de forma que o número de espécies descritas não é confiável.

Um dos problemas na delimitação genérica dos membros de Pisonieae esteve em torno da circunscrição do gênero *Pisonia*, e o concomitante reconhecimento de *Guapira* como gênero. Heimerl (1934) dividiu *Pisonia* em duas seções, *Glanduliferae* e *Eupisonia*, sinonimizando os gêneros *Guapira* e *Torrubia*, descritos respectivamente por Aublet em 1775 e Velloso em 1825, nesta última seção. A seção *Glanduliferae* se diferencia por abrigar espécies pantropicais, com antocarpos de consistência coriácea ou lenhosa, com glândulas em linhas longitudinais. Já a seção *Eupisonia* é caracterizada pelo antocarpo de consistência carnosa e distribuição predominantemente Neotropical.

Heimerl (1913) reestabeleceu o gênero *Calpidia*, descrito por Thouars em 1805, e criou o gênero *Rockia*, segregando-os de *Pisonia*, com base na presença de antocarpos sem glândulas em algumas espécies provenientes do Velho Mundo, principalmente, das ilhas do Pacífico. Outros autores, no entanto, propuseram o inverso: Britton (1904) não concordou com o posicionamento de táxons com antocarpos carnosos em *Pisonia* “*sensu lato*”, restaurando então, o gênero *Torrubia* para acomodá-los; Standley (1911, 1916, 1931a, 1931b) descreveu e transferiu diversas espécies para este gênero e, por fim, McVaugh (1968) recomendou a conservação de *Guapira* sobre *Torrubia*. Desde então, *Guapira* tem sido o gênero mais aceito para abrigar espécies com antocarpos carnosos, e novas combinações tem sido realizadas para esse gênero (Woodson & Kidd, 1961; Lundell, 1962; Lundell, 1968; Reitz, 1970; Steyermark, 1987).

Posteriormente, uma revisão de *Pisonia* foi realizada por Stemmerik (1964), que considerou apenas as espécies do Velho Mundo, e a delimitação desse grupo novamente se modificou com a criação de três seções para abrigar espécies com antocarpos sem glândulas (essas seções diferenciam-se entre si quanto à presença de *rostrum* e número de estames), enquanto as espécies com glândulas no antocarpo permaneceram na já existente seção *Glanduliferae*. Consequentemente, o *status* genérico de *Calpidia* e *Rockia* foi questionado, e suas espécies foram transferidas para *Pisonia*. Mas, ainda assim, essa revisão não oferece a delimitação mais estável para *Pisonia*, e o posicionamento das espécies do Velho Mundo com antocarpo sem glândulas precisa ser averiguado. Entretanto, uma clara distinção entre *Guapira* e *Pisonia*, através da consistência do antocarpo, não significa que o conceito genérico de *Guapira* esteja bem estabelecido. A semelhança morfológica de *Guapira* com *Neea*, um gênero descrito por Ruiz & Pavón em 1794, cujas espécies também possuem antocarpos carnosos, tem causado frequentes confusões e dificultando os autores na tarefa de delimitá-los. Em um estudo com as Nyctaginaceae da região Noroeste da América do Sul, Standley (1931b) diferenciou os gêneros *Torrubia* (*Guapira*) e *Neea* pela posição dos estames em

relação ao perianto (inserto em *Neea* e exserto em *Guapira*), porém acreditou que essa delimitação fosse artificial, sendo um artifício decorrente da baixa amostragem das espécies desta região. Por outro lado, Pool (2001) levantou a suspeita que *Guapira* e *Neea* na realidade não são grupos naturais ao afirmar que uma revisão destes gêneros resultaria na sua fusão.

Em uma revisão mais ampla de Pisonieae com foco sobre as espécies ocorrentes no Brasil, Furlan (1996), mesmo analisando uma grande quantidade de material, optou por manter *Neea* e *Guapira* como gêneros distintos. Os caracteres diagnósticos utilizados foram “a posição dos estames em relação ao perianto, e também a forma do perianto da flor estaminada (campanulada em *Guapira* e urceolada em *Neea*)”.

Visto que não há um consenso na sistemática tradicional sobre a delimitação dos principais gêneros da tribo Pisonieae, uma solução seria a reconstrução filogenética deste grupo. A única filogenia de Pisonieae realizada até o presente foi a de Douglas & Manos (2007) e seus resultados mostraram que não houve uma separação de *Guapira* e *Neea* em clados distintos, indicando que não são grupos monofiléticos (Fig. 1). No entanto, apenas cinco espécies representando os dois gêneros foram utilizadas. Já *Pisonia* se mostrou como grupo monofilético, apresentando-se como grupo irmão do clado *Neea-Guapira* (Fig. 1), mas sua amostragem também foi muito pequena (apenas duas espécies neotropicais), e uma amostragem com mais espécies neotropicais, além da inclusão de espécies do Velho Mundo e da pantropical *Pisonia aculeata* L., seria necessária para testar a monofilia deste gênero. Por causa da baixa amostragem, esses autores não arriscaram a realizar novas recombinações taxonômicas.

O presente projeto faz parte de um cenário atual onde as classificações taxonômicas propostas são baseadas em relações evolutivas entre os táxons. A delimitação genérica da tribo Pisonieae tem um histórico taxonômico complicado, não existindo, até o presente, uma clara delimitação dos gêneros Neotropicais *Guapira* e *Neea*. Os caracteres morfológicos utilizados na delimitação destes gêneros, além de insuficientes, foram escolhidos sem considerar a sua história evolutiva e, muito provavelmente são homoplásicos ou plesiomórficos. Além disso, a circunscrição de *Pisonia* tem variado, e por ser o único gênero da tribo Pisonieae com distribuição pantropical, sua delimitação será estudada com a amostragem tanto de espécies Neotropicais quanto com as do Velho Mundo. Desta forma, este projeto contribuirá para uma classificação genérica mais robusta de Pisonieae, baseada em uma abordagem filogenética, e com base para posterior revisão taxonômica e estudos de biogeografia histórica.

2-OBJETIVOS

O presente projeto objetiva a reconstrução filogenética da tribo Pisonieae, através de análises de sequências de DNA nuclear (ITS) e do cloroplasto (*rps16*) de espécies representativas da tribo e a reconstrução do estado ancestral de caracteres morfológicos selecionados, além da reconstrução da biogeográfica desta tribo.

3-QUESTÕES A SEREM RESPONDIDAS

(1) os gêneros Neotropicais com antocarpos carnosos *Neea* e *Guapira* são monofiléticos ou parafiléticos?

(2) O gênero *Pisonia*, um grupo pantropical com antocarpos secos, é um grupo monofilético, no qual as espécies com antocarpos glandulosos provenientes do Velho Mundo e dos Neotrópicos e as espécies do Velho Mundo com antocarpos sem glândulas compartilham um mesmo ancestral mais recente ou um grupo polifilético, no qual essas linhagens (antocarpos secos glandulosos e não glandulosos) evoluíram independentemente?

(3) Os caracteres morfológicos utilizados na delimitação dos gêneros *Guapira*, *Neea* e *Pisonia* são apomórficos ou plesiomórficos e homoplásicos?

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

A amostragem de representantes Neotropicais dos táxons a serem estudados será realizada no Brasil, principalmente, nos estados do Paraná e São Paulo, mas também em localidades com registro de um grande número de espécies de *Guapira* e *Neea*, como a Amazônia Central (AM), região de Ilhéus (BA), além dos estados do Acre e Minas Gerais. Folhas destas espécies serão coletadas e desidratadas em sílica gel para posterior extração de DNA, ao passo que *vouchers* de ramos floridos ou com frutos serão depositados no herbário da Universidade Estadual de Londrina (FUEL) e nos herbários das localidades onde as amostras forem realizadas.

Extração, amplificação e sequenciamento de DNA

O DNA total das folhas desidratadas em sílica gel, será extraído com utilização do *DNeasy Mini Kit* (Qiagen), com protocolo de extração conforme recomendado pelo fabricante. Para a amplificação da região de ITS, serão utilizados os *primers* ITS 5A/ITS4 (Stanford *et al.*, 2000), e o protocolo de amplificação seguirá o proposto por esses autores. A amplificação do marcador *rps16*, serão utilizados os *primers* *rpsF* e *rpsR2* (Oxelman *et al.*, 1997) e o protocolo de amplificação seguirá o proposto por esses autores. Os produtos da amplificação serão purificados com utilização do kit *QIAquick* (Qiagen) e depois serão encaminhados para sequenciamento. O grupo externo a ser utilizado contará com espécies da tribo Bougainvilleeae, indicada como grupo irmão da tribo Pisonieae (Fig. 1), cujas seqüências de DNA nuclear (ITS) e de cloroplasto (*rps16*) se encontram depositadas no *GenBank*. As espécies de *Pisonia* do Velho Mundo e de *Neea* e *Guapira* extra-brasileiras, também contam com seqüências de DNA para esses dois marcadores depositadas no *GenBank*.

Alinhamento e análise filogenética

As seqüências de DNA obtidas serão alinhadas utilizando o programa Clustal Omega versão 1.1 (Sievers *et al.* 2011), com uma posterior checagem manual. As árvores filogenéticas serão inferidas a partir da matriz de seqüências alinhadas e análise Bayesiana, realizada com o programa MrBayes 3.2 (Ronquist *et al.*, 2005). A seleção do modelo de substituição de nucleotídeos mais apropriado para essas análises será feita através do programa ModelTest 3.7 (Posada & Crandall, 1998). A robustez das árvores filogenéticas será estimada através de probabilidade posterior (PP). Por fim, a congruência das seqüências de ITS e *rps16* será testada através do teste ILD (Farris *et al.*, 1994) com auxílio do programa PAUP 4.0b10 (Swofford, 2002).

Levantamento de estados de caráter morfológicos

Caracteres morfológicos selecionados serão levantados de todas as espécies utilizadas para a reconstrução filogenética, através da análise de material herborizado, solicitados como empréstimos dos herbários FUEL, INPA, HRCB, MBM, entre outros. O levantamento dos caracteres morfológicos de espécies extra-brasileiras será efetuado através de literatura especializada. Serão analisados o máximo possível de caracteres morfológicos, inclusive aqueles tradicionalmente utilizados na delimitação de *Guapira*, *Neea* e *Pisonia*, como a consistência do antocarpo, posição dos estames em relação ao perianto e forma do perianto estaminado.

Reconstrução do estado de caráter ancestral

Os caracteres morfológicos a serem examinados deverão ser independentes entre si e não contínuos, e suas variações (estados de caráter) serão codificadas em uma matriz binária que posteriormente será utilizada para a reconstrução dos estados ancestrais a partir do método de parcimônia, permitindo desta forma uma avaliação sobre quais caracteres são homoplásicos e quais correspondem a apomorfias. A reconstrução dos estados de caráter ancestral será realizada a partir das árvores obtidas por método Bayesiano, com auxílio do software Mesquite 2.75 (Madison & Madison, 2011). Todos os caracteres serão tratados como não ordenados.

RESULTADOS ESPERADOS

É esperado que as análises efetuadas com as sequências dos segmentos ITS e *rps16* resultem em uma árvore filogenética com clados bem resolvidos e fortemente sustentados, que permitam clara determinação sobre a monofilia, ou não, dos grupos estudados.

A reconstrução filogenética do gênero *Pisonia*, com utilização de espécies dos Neotrópicos e do Velho Mundo deverá indicar se este gênero é de fato um grupo monofilético, confirmando a delimitação proposta pela sistemática tradicional, ou não-monofilético, onde as espécies com antocarpos secos sem glândulas evoluíram independentemente daquelas com antocarpos secos com glândulas. Se, de fato estes gêneros não se comportarem como monofiléticos, seus limites serão reorganizados, e caracteres morfológicos apomórficos obtidos pela reconstrução do estado de caráter ancestral serão utilizados para caracterizá-los.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bittrich, V. 1993. Introduction to Centrospermae. Pp. 13-19. In Kubitzki, K.; Rohwer, J.G. & Bittrich, V. (eds.) **The families and genera of flowering plants**. Berlim: Verlag.
- Bittrich, V. & Kühn, U. 1993. Nyctaginaceae. Pp. 473-486. In Kubitzki, K.; Rohwer, J.G. & Bittrich, V. (eds.) **The families and genera of flowering plants**. Berlim: Verlag.
- Britton, N.L. 1904. On *Pisonia obtusata* and its allies. **Bulletin of the Torrey Botanical Club** 31: 611-615.
- Brockington, S.F.; Alexandre, R.; Ramdial, J.; Moore, M.; Crawley, S.; Dhingra, A.; Hilu, K.; Soltis, P. & Soltis, D.E. 2009. Phylogeny of the Caryophyllales *sensu lato*: Revisiting hypotheses on pollination biology and perianth differentiation in the core Caryophyllales. **International Journal of Plant Science** 170(5): 627-643.

- Choisy, J.D. 1849. Nyctaginaceae. **Prodromus** 13(2): 425-458.
- Cronquist, A. 1988. **The evolution and classification of flowering plants**. New York, New York Botanical Garden. 555p.
- Cuénod, P.; Savolainen, V.; Chatrou, L.W.; Powell, M.; Grayer, R.J. e Chase, M.W. 2002. Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid *rbcL*, *atpB*, and *matK* DNA sequences. **American Journal of Botany** 89(1): 132-144.
- Douglas, N.A. e Manos, P.S. 2007. Molecular phylogeny of Nyctaginaceae: taxonomy, biogeography, and characters associated with a radiation of xerophytic genera in North America. **American Journal of Botany** 94(5): 856-872.
- Douglas, N. & Spellenberg, R. 2010. A new tribal classification of Nyctaginaceae. **Taxon** 59(3): 905-910.
- Farris, J.S.; Källersjö, M.; Kluge, A.G. & Bult, C. 1994. Testing significance of incongruence. **Cladistics** 10(3): 315-319.
- Furlan, A. 1996. A tribo Pisonieae Meisner (Nyctaginaceae) no Brasil. **Tese de doutorado em botânica**. Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- Heimerl, A. 1913. Die Nyctaginaceen-Gattungen *Calpidia* und *Rockia*. **Österreichische Botanische Zeitschrift** 63(7): 279-290.
- Heimerl, A. 1934. Nyctaginaceae. Pp. 86-134. In Engler, A. & Prantl, K. (eds.) **Die Natürlichen Pflanzenfamilien**. Berlin: Duncker & Humblot.
- Levin, R.A. 2000. Phylogenetic relationships within Nyctaginaceae tribe Nyctagineae: evidence from nuclear and chloroplast genomes. **Systematic Botany** 25(4): 738-750.
- Lundell, C.L. 1962. Plantae Mayanae-V. **Wrightia** 2(3): 21-36.
- Lundell, C.L. 1968. Studies of American tropical plants V. **Wrightia** 4(2): 79-96.
- Madison, W.P. & Madison, D.R. 2011. **Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Versão 2.75**. Disponível em <http://mesquiteproject.org>.
- McVaugh, R. 1968. Report of the Committee for Spermatophyta, Conservation of Generic Names, X. **Taxon** 17(4): 462-466.
- Meimberg, H.; Dittrich, P.; Bringmann, G.; Schlauer, J. & Heubl, G. 2000. Molecular phylogeny of Caryophyllidae s.l. Based on *matK* sequences with special emphasis on carnivorous taxa. **Plant biology** 2: 218-228.
- Oxelman, B.; Liden, M. & Berglund, D. 1997. Chloroplast *rps16* intron phylogeny of the tribe Sileneae (Caryophyllaceae). **Plant Systematics and Evolution** 206: 393-410.
- Pool, A. Nyctaginaceae. In **Flora de Nicaragua** (W.D. Stevens, C. Ulloa, A. Pool, O.M. Montie, eds.). Missouri Botanical Garden Press, St. Louis 1581-1592.

- Posada, D. & Crandall, K.A. 1998. MODELTEST: testing the model DNA substitution. **Bioinformatics** 14(9): 817-818.
- Reitz, R. **Flora Ilustrada Catarinense: Nictagináceas**. Itajaí, Herbário Barbosa Rodrigues. 52p.
- Ronquist, F.; Huesenlbeck, J.P. & Van der Mark, P. 2005. **MrBayes. Versão 3.2**. Disponível em <http://mrbayes.csit.fsu.edu/download.php>.
- Savolainen, V.; Chase, M.W.; Hoot, S.B.; Morton, C.M.; Soltis, D.E.; Bayer, C.; Fay, M.F.; de Bruijin, A.Y.; Sullivan, S. & Qiu, Y.L. 2000. Phylogenetics of flowering plants based on combined analysis of plastid *atpB* and *rbcL* gene sequences. **Systematic Biology** 49(2): 306-362.
- Sievers, F.; Wilm. A.; Dineen, D.; Gibson, T.J.; Karplus, K.; Li, W.; Lopez, R.; McWilliam, H.; Remmert, M.; Söding, J.; Thompson, J.D. & Higgins, D.G. 2011. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. **Molecular Systems Biology** 7: 1-6.
- Soltis, D.E.; Soltis, P.S.; Chase, M.K.; Mort, M.E.; Albach, D.C.; Zanis, M.; Savolainen, V.; Hahn, W.H.; Hoot, S.B.; Fay, M.F.; Axtell, M.; Swensen, S.M.; Prince, L.M.; Kress, W.J.; Nixon, K.C. & Farris, J.S. 2000. Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, *rbcL*, and *atpB* sequences. **Botanical Journal of the Linnean Society** 133: 381-461.
- Standley, P.C. 1911. The Allioniaceae of Mexico and Central America. **Contributions from the United States National Herbarium** 13: 377-430.
- Standley, P.C. 1916. Studies of tropical american phanerogams: new or notable Allioniaceae. **Contributions from the United States National Herbarium** 18(3): 98-101.
- Standley, P.C. 1931a. Studies of American plants: Nyctaginaceae. **Field Museum Botanical Series** 8(5): 304-311.
- Standley, P.C. 1931b. The Nyctaginaceae of northwestern South America. **Field Museum Botanical Series** 11(3): 73-114.
- Stanford, A.M.; Harden, R. e Parks, C.R. 2000. Phylogeny and biogeography of *Juglans* (Juglandaceae) based on matK and ITS sequence data. **American Journal of Botany** 87: 872-882.
- Stemmerik, J.F. 1964. Florae malesianae precursors XXXVIII: notes on *Pisonia* L. of the Old World (Nyctaginaceae). **Blumea** 12(2): 275-284.
- Steyermark, J.A. 1987. Flora of Venezuelan Guayana- III. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 74: 609-658.
- Swofford, D.L. 2002. **PAUP*: Phylogenetics analysis using parsimony (and other methods). Versão 4.0b10**. Sunderland, Sinauer Associates.
- Woodson, R.E. & Kidd, H.J. 1961. Flora of Panama IV (Nyctaginaceae). **Annals of Missouri Botanical Garden** 48:51-65.

FIGURAS

Figura 1- Árvore filogenética da família Nyctaginaceae. O clado da tribo Pisonieae está localizada no interior do retângulo vermelho (Modificado de Douglas & Manos, 2007).

