

PROJETO DE DOUTORADO

Título do projeto:

**Revisão taxonômica e filogenética molecular de *Plantago* subgênero *Plantago*  
(Plantaginaceae)**

Gustavo Hassemer

Orientadora proposta: Nina Rønsted

Florianópolis, 20 de setembro de 2013

## 1. Introdução e justificativas

*Plantago* L. (Plantaginaceae) é um gênero cosmopolita com mais de 250 espécies, concentradas em regiões temperadas e tropicais de altitude (Rahn 1996; Rønsted *et al.* 2002; Tay *et al.* 2010; Hefler *et al.* 2011). Os gêneros mais próximos são *Littorella* P.J.Bergius (Hoggard *et al.* 2003) e *Aragoa* Kunth (Bello *et al.* 2002), formando a tribo Plantagineae (Albach *et al.* 2005).

A circunscrição da família Plantaginaceae foi radicalmente alterada com recentes estudos filogenéticos moleculares (Olmstead *et al.* 2001; APG 2003, 2009), tendo sido grandemente expandida com inclusão de Callitrichaceae, Globulariaceae e Hippuridaceae, além de um grande número de espécies da antiga Scrophulariaceae (*sensu lato*). Também a circunscrição de *Plantago* foi expandida, com a inclusão do gênero monotípico *Bougueria* Decne. (Rahn 1996; Rønsted *et al.* 2002).

As espécies de *Plantago* são ervas ou raramente subarbustos, perenes ou anuais, anemófilas (Meudt 2012). Embora algumas espécies tenham ampla distribuição, sendo até mesmo ruderais cosmopolitas, muitas outras têm distribuição restrita, ocorrendo em ambientes mais especializados, sendo que várias dessas são endêmicas de pequenas ilhas oceânicas (Dunbar-Co *et al.* 2008; Tay *et al.* 2010; Meudt 2012).

O subgênero *Plantago* é cosmopolita, inclui 133 espécies (Tay *et al.* 2010), e é dividido em cinco seções, segundo a classificação de Rahn (1996), atualizada por Rønsted *et al.* (2002): *Mesembrynia* Decne., *Micropsyllum* Decne., *Plantago*, *Oliganthos* Barnéoud e *Virginica* Barnéoud, sendo que apenas estas duas últimas seções contam com espécies nativas na América do Sul, região considerada um dos hotspots mundiais de biodiversidade (Antonelli & Sanmartín 2011).

A seção *Virginica* ocorre nas Américas e inclui 28 espécies, a maioria dessas (22) ocorrendo apenas na América do Sul (Rahn 1974). Todas as espécies de *Plantago* nativas no Brasil pertencem a esta seção, com a exceção de *P. brasiliensis* Sims, que pertence ao subgênero *Psyllium* (Juss.) Harms & Reiche seção *Gnaphaloides* Barnéoud. Já a seção *Oliganthos* inclui 23 espécies, 14 dessas ocorrendo na Oceania e nove na América do Sul, nos Andes e na Patagônia (Rahn 1984, 1985; Tay *et al.* 2010), e inclui as duas espécies anteriormente reconhecidas na seção *Carpophorae* Rahn (Rahn 1996).

*Plantago* é um gênero de difícil taxonomia, principalmente em virtude da sua morfologia muito complexa, que conta com relativamente poucos caracteres para a classificação e a identificação das espécies (Ishikawa *et al.* 2009). Entre os caracteres morfológicos, os dos tricomas e das sementes são considerados os mais informativos (Rahn 1996; Rønsted *et al.* 2002). Assim, além de muitos estudos com os tricomas

(Andrzejewska-Golec & Świątosławski 1989, 1991, 1993, 1998; Rahn 1992) e alguns com as sementes (Shehata & Loutfy 2006) de *Plantago*, também foram realizados estudos quimiotaconômicos (Rønsted *et al.* 2000, 2003; Taskova *et al.* 2002), sem, contudo, conseguir esclarecer satisfatoriamente a filogenia do gênero.

Análises moleculares vêm sendo utilizadas para revisar as relações filogenéticas e as circunscrições de táxons dentro da tribo Plantagineae (Bello *et al.* 2002; Rønsted *et al.* 2002; Hoggard *et al.* 2003; Cho *et al.* 2004; Dunbar-Co *et al.* 2008; Ishikawa *et al.* 2009; Tay *et al.* 2010), e também a sua biogeografia (Meyers & Liston 2008). Os recentes estudos filogenéticos moleculares de Ishikawa *et al.* (2009) e de Tay *et al.* (2010) indicaram que, embora o subgênero *Plantago* seja monofilético, as suas seções não o são, o que demonstra a necessidade de mais estudos para a melhor compreensão das relações filogenéticas dentro deste gênero.

As espécies sul-americanas de *Plantago* carecem de revisões sistemáticas com análises moleculares, estando esparsamente representadas nos estudos moleculares anteriormente citados. Além disso, existem problemas na delimitação entre as seções *Oliganthos* e *Virginica* (Rønsted *et al.* 2002; Ishikawa *et al.* 2009; Tay *et al.* 2010), e na circunscrição das espécies dessas duas seções. Esses problemas poderiam ser esclarecidos com uma revisão filogenética molecular destas seções, o que permitiria a aplicação adequada de esforços de conservação para as espécies que estiverem ameaçadas de extinção, e possibilitaria desvendar a história evolutiva e a biogeografia (Meyers & Liston 2008) do subgênero *Plantago* na América do Sul.

## 2. Objetivos

O objetivo principal deste trabalho é realizar uma revisão taxonômica e filogenética molecular de *Plantago* subgênero *Plantago*, visando esclarecer as relações filogenéticas dentro e entre estas duas seções, e a circunscrição das suas espécies.

Mais especificamente, serão tratadas as seguintes questões:

- ➔ Essas duas seções, como atualmente reconhecidas, são monofiléticas? Em caso negativo, que conformação teria as linhagens monofiléticas que incluiriam as espécies atualmente reconhecidas nestas seções?
- ➔ Quais as relações das espécies atualmente reconhecidas nestas duas seções com as outras seções do subgênero *Plantago*?
- ➔ Quantas espécies podem ser reconhecidas nestas duas seções?

Além disso, este trabalho tem o objetivo de disponibilizar um banco de sementes para as espécies de *Plantago* da América do Sul, visando possibilitar futuros estudos

taxonômicos (incluindo revisões filogenéticas moleculares para os grupos ainda não estudados), farmacológicos, agrônômicos e de conservação *ex-situ*. Com isto, seria possível também o desenvolvimento de coleções de espécies de *Plantago* para serem exibidas em jardins botânicos brasileiros.

### 3. Material e métodos

#### 3.1. Espécies estudadas e técnicas moleculares

Serão feitas análises moleculares para as espécies e subespécies de *Plantago* seções *Virginica* e *Oliganthos* que ocorrem nas Américas, conforme reconhecidas por Rahn (1974, 1984, 1985), totalizando 54 táxons. Serão usadas também as sequências das espécies da seção *Oliganthos* ocorrentes na Oceania que já foram estudadas por Tay *et al.* (2010), visando esclarecer a filogenia desta seção.

Serão incluídas também nas análises *Plantago brasiliensis*, visando testar a possibilidade de haver ocorrido herança reticulada entre espécies de diferentes subgêneros de *Plantago* na América do Sul. Como grupos externos para as análises, serão usadas *P. coronopus* L., *P. lanceolata* L. e *P. major* L., três espécies presentes em vários dos estudos moleculares já realizados para *Plantago*, que representam três linhagens distintas dentro deste gênero.

As extrações de DNA serão feitas utilizando os kits *DNEasy Plant Mini* (Qiagen, Hilden, Germany), ou utilizando o protocolo de brometo de cetil trimetil amônio (CTAB) de Doyle & Doyle (1990).

O uso de diferentes marcadores provenientes de diferentes genomas pode revelar se eventos como hibridações, introgressões gênicas, evolução reticulada e ordenação incompleta de linhagens ocorreram no passado (Vriesendorp & Bakker 2005). Com base nos métodos adotados por Tay *et al.* (2010), é inicialmente sugerida a metodologia apresentada a seguir: a amplificação por PCR será feita usando um volume final de 25 µl, composta por 16,35 µl de água, 1 x da reação-tampão *ThermoPol* (10mM KCl, 10mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 20mM TRIS-HCl (pH 8,8), 2mM MgSO<sub>4</sub>, 0,1% Triton X-100) (New England BioLabs, Ipswich, MA), 0,4 mgml<sup>-1</sup> BSA, 250 µmol dNTPs, 10 pmol de cada iniciador, 0,75 U of *Taq* DNA-polimerase (New England BioLabs), e 0,4 µl do modelo de DNA. A amplificação será feita com uma rotina termocicladora de inicialmente 2 minutos a 94°C, seguida por 30 ciclos de 1 minuto a 94°C, 1,5 minuto a 50°C, 1 minuto a 72°C, e terminando com um tempo final de 5 minutos a 72°C. Os produtos da PCR serão visualizados em gel agarose 1.5% antes de serem purificados com o *High Pure PCR Purification Kit* (Roche Diagnostics,

Mannheim, Alemanha). As sequências geradas serão posteriormente disponibilizadas no GenBank.

### 3.2. Obtenção dos materiais para análise

Para a obtenção dos materiais necessários para as análises moleculares, será inicialmente consultado o Jardim Botânico da Universidade de Copenhaga, onde materiais de várias espécies de *Plantago* estão disponíveis, em virtude dos vários estudos realizados com este gênero neste local, principalmente pelo botânico dinamarquês Knud Rahn.

Uma vez que as espécies sul-americanas foram relativamente pouco estudadas, será realizada uma viagem de coleta na América do Sul, incluindo Brasil, Argentina, Chile, oeste da Bolívia e sul do Peru, planejada para janeiro e fevereiro de 2016. Esse período está enquadrado no verão no Hemisfério Sul, estação na qual, segundo as informações disponíveis (Rahn 1966, 1974, 1979, 1984, 1985; Tolaba *et al.* 1998; Hefler *et al.* 2011), a maioria das espécies de interesse está em flor e fruto. Serão coletadas amostras para as análises moleculares, que serão conservadas em sílica-gel, e plantas para confeccionar exsicatas, de cujas duplicatas serão depositadas em herbários brasileiros. Serão coletadas sementes, visando possibilitar mais estudos e futuras iniciativas de conservação *ex-situ* para essas espécies. Serão tiradas também fotos dos locais de ocorrência das espécies.

Antes da viagem, será feito contato com professores e pesquisadores dos locais a serem visitados, com o objetivo de conseguir apoio e parcerias, maximizar a eficiência das coletas, e tentar reduzir os custos. Além das espécies das seções *Virginica* e *Oliganthos* necessárias para as análises, serão coletados materiais das outras espécies da tribo Plantagineae que ocorrem nos locais visitados, conforme Rahn (1981, 1982, 1983), visando possibilitar futuros estudos taxonômicos, filogenéticos e de conservação com esses táxons, aumentando assim os benefícios da viagem.

No Brasil será necessária a coleta de *Plantago australis* subsp. *pretoana*, na Serra do Itatiaia, entre RJ e MG, e de *P. commersoniana*, na Serra do Caparaó, entre ES e MG. Materiais dos outros táxons de *Plantago* que ocorrem no Brasil, incluindo de *P. trinitatis*, espécie endêmica da Ilha da Trindade, já foram providenciados durante o mestrado de G.H.

Fora do Brasil, as áreas mais importantes para coleta foram divididas em quatro regiões, ordenadas de acordo com o possível itinerário a ser percorrido. A primeira região é o noroeste da Argentina, oeste da Bolívia e sul do Peru, nos Andes e adjacências, onde serão coletados 19 táxons: *Plantago argentina*, *P. australis* subsp.

*pflanzii*, *P. buchtienii*, *P. densa* (Pilg.) Rahn, *P. jujuyensis*, *P. lamprophylla* Pilg., *P. limensis* Pers., *P. myosuros* subsp. *humilior*, *P. nubicola* (Decne.) Rahn, *P. orbignyana* subsp. *niederleini*, *P. orbignyana* subsp. *orbignyana*, *P. orbignyana* subsp. *pseudomollior*, *P. rigida*, *P. sericea* Ruiz & Pav. subsp. *sericans* (Pilg.) Rahn, *P. sericea* subsp. *sericea*, *P. sericea* subsp. *polyclada* (Pilg.) Rahn, *P. tubulosa*, *P. venturii* e *P. weddelliana*. Depois, no Chile, serão coletados oito táxons: *P. australis* subsp. *cumingiana*, *P. firma*, *P. grandiflora* Meyen, *P. hispidula* Ruiz & Pav., *P. litorea* Phil., *P. pachyneura*, *P. rancaguae* Steud. e *P. truncata*. Em seguida, no extremo sul da América do Sul (Províncias de Santa Cruz e Tierra del Fuego, na Argentina, e Região de Magallanes, no Chile), serão coletados 11 táxons: *Littorella australis* Griseb. ex Benth. & Hook.f., *P. barbata* subsp. *austroandina*, *P. barbata* subsp. *barbata*, *P. barbata* subsp. *gigantea*, *P. barbata* subsp. *monanthos*, *P. barbata* subsp. *muscoides*, *P. correae*, *P. pulvinata*, *P. sempervivoides*, *P. tehuelcha* e *P. uniglumis*. Por fim, na Província de Buenos Aires, no leste da Argentina, serão coletados cinco táxons: *P. berroi*, *P. bismarckii* Niederl., *P. dielsiana*, *P. tandilensis* (Pilg.) Rahn e *P. ventanensis*.

Para obter materiais dos táxons da seção *Virginica* que ocorrem exclusivamente na América do Norte (*Plantago alismatifolia*, *P. australis* subsp. *leioloma*, *P. floccosa*, *P. rhodosperma*, *P. subnuda* e *P. virginica*) e no norte da América do Sul (*P. australis* subsp. *oreades*, *P. australis* subsp. *sodiroana*, *P. orbignyana* subsp. *hartwegii* e *P. tenuipala*), de *P. galapagensis* (endêmica das Ilhas Galápagos) e de *P. moorei* (endêmica das Ilhas Malvinas), será feito contato com instituições e pesquisadores norte-americanos, mexicanos, colombianos, equatorianos e britânicos, visando conseguir parcerias para a coleta e envio de materiais dessas espécies para as análises moleculares, e também exsiccatas e sementes. Na eventualidade de não ser possível a obtenção de material para algum desses táxons, esses serão omitidos do estudo.

### 3.3. Análises dos dados

Para o alinhamento e análises dos dados gerados, será utilizada uma versão adaptada da metodologia empregada por Tay *et al.* (2010). A princípio, o alinhamento das sequências será feito usando o programa MEGA (Kumar *et al.* 2004), as análises heurísticas serão conduzidas com o programa MrBayes (Huelsenbeck & Ronquist 2001), e a estruturação da árvore filogenética resultante usará os programas SplitsTree (Huson & Bryant 2006) e MacClade (Maddison & Maddison 2005).

## 4. Referências

- Albach, D.C., H.M. Meudt & B. Oxelman. 2005. Piecing together the “new” Plantaginaceae. *American Journal of Botany* 92: 297–315.
- Andrzejewska-Golec, E. & J. Świątosławski. 1989. The morphology of hairs in species of *Plantago* L. sections: *Bauphula* Decne and *Arnoglossum* Decne. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 58: 15–45.
- Andrzejewska-Golec, E. & J. Świątosławski. 1991. The morphology of hairs in taxa of the genus *Plantago* L. sections: *Polyneuron* Decne and *Lamprosantha* Decne. *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 60: 3–42.
- Andrzejewska-Golec, E. & J. Świątosławski. 1993. Hair anatomy in *Plantago* subg. *Psyllium* (Plantaginaceae). *Plant Systematics and Evolution* 184: 113–123.
- Andrzejewska-Golec, E. & J. Świątosławski. 1998. Microhairs of *Plantago maritima* L. under electron scanning microscopy. *Feddes Repertorium* 109: 225–229.
- Antonelli, A. & I. Sanmartín. 2011. Why are there so many plant species in the Neotropics? *Taxon* 60: 403–414.
- APG (Angiosperm Phylogeny Group). 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399–436.
- APG (Angiosperm Phylogeny Group). 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105–121.
- Bello, M.A., M.W. Chase, R.J. Olmstead, N. Rønsted & D. Albach. 2002. The páramo endemic *Aragoa* is the sister genus of *Plantago* (Plantaginaceae; Lamiales): evidence from plastid *rbcL* and nuclear ribosomal ITS sequence data. *Kew Bulletin* 57: 585–597.
- Cho, Y., J.P. Mower, Y.-L. Qiu & J.D. Palmer. 2004. Mitochondrial substitution rates are extraordinarily elevated and variable in a genus of flowering plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 101(51): 17741–17746.
- Doyle, J.J. & J.D. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13–15.
- Dunbar-Co, S., A.M. Wieczorek & C.W. Morden. 2008. Molecular phylogeny and adaptive radiation of the endemic Hawaiian *Plantago* species (Plantaginaceae). *American Journal of Botany* 95: 1177–1188.
- Hefler, S.M., W.A. Rodrigues & A.C. Cervi. 2011. O gênero *Plantago* L. (Plantaginaceae) na região Sul do Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* 9: 297–321.

- Hoggard, R.K., P.J. Kores, M. Molvray, G.D. Hoggard & D.A. Broughton. 2003. Molecular systematics and biogeography of the amphibious genus *Littorella* (Plantaginaceae). *American Journal of Botany* 90: 429–435.
- Huelsenbeck, J.P. & F. Ronquist. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754–755.
- Huson, D.H. & D. Bryant. 2006. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies. *Molecular Biology and Evolution* 23: 254–267.
- Ishikawa, N., J. Yokoyama & H. Tsukaya. 2009. Molecular evidence of reticulate evolution in the subgenus *Plantago* (Plantaginaceae). *American Journal of Botany* 96: 1627–1635.
- Kumar, S., K. Tamura & M. Nei. 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5: 150–163.
- Maddison, D.R. & W.P. Maddison. 2005. MacClade 4.08: analysis of phylogeny and character evolution. Sinauer Associates: Sunderland, MA.
- Meudt, H.M. 2012. A taxonomic revision of native New Zealand *Plantago* (Plantaginaceae). *New Zealand Journal of Botany* 50: 101–178.
- Meyers, S.C. & A. Liston. 2008. The biogeography of *Plantago ovata* Forssk.(Plantaginaceae). *International Journal of Plant Sciences* 169: 954–962.
- Olmstead, R.G., C.W. dePamphilis, A.D. Wolfe, N.D. Young, W.J. Elisons & P.A. Reeves. 2001. Disintegration of the Scrophulariaceae. *American Journal of Botany* 88: 348–361.
- Rahn, K. 1966. Plantagináceas. In: Reitz, R. (ed.). *Flora Ilustrada Catarinense PLAN*: 1–37.
- Rahn, K. 1974. *Plantago* section *Virginica*: a taxonomic revision of a group of American plantains using experimental, taximetric and classical methods. *Dansk Botanisk Arkiv* 30(2): 1–180.
- Rahn, K. 1979. Plantaginaceae. In: Burkart, A. (ed.). *Flora Ilustrada de Entre Ríos*. Buenos Aires: I.N.T.A. Pt. 5. p. 583–591.
- Rahn, K. 1981. *Plantago* ser. *Sericeae*, a taxonomic revision. *Nordic Journal of Botany* 1: 297–323.
- Rahn, K. 1982. *Plantago* ser. *Hispidulae*, a taxonomic revision. *Nordic Journal of Botany* 2: 29–39.
- Rahn, K. 1983. *Plantago* ser. *Brasilienses*, a taxonomic revision. *Nordic Journal of Botany* 3: 331–342.
- Rahn, K. 1984. *Plantago* sect. *Oliganthos* in southern South America, a taxonomic revision. *Nordic Journal of Botany* 4: 601–627.

- Rahn, K. 1985. *Plantago* sect. *Carpophorae*, a taxonomic study. Nordic Journal of Botany 5: 143–151.
- Rahn, K. 1992. Trichomes within the Plantaginaceae. Nordic Journal of Botany 12: 3–12.
- Rahn, K. 1995. Plantaginaceae. In: Hunziker, A.T. (ed.). Flora Fanerogámica Argentina. Argentina: PROFLOA-CONICET, fasc. 3. 24 p.
- Rahn, K. 1996. A phylogenetic study of the Plantaginaceae. Botanical Journal of the Linnean Society 120: 145–198.
- Rønsted, N., E. Göbel, H. Franzky, S.R. Jensen & C.E. Olsen. 2000. Chemotaxonomy of *Plantago*. Iridoid glucosides and caffeoyl phenylethanoid glycosides. Phytochemistry 55: 337–348.
- Rønsted, N., M.W. Chase, D.C. Albach & M.A. Bello. 2002. Phylogenetic relationships within *Plantago* (Plantaginaceae): evidence from nuclear ribosomal ITS and plastid *trnL-F* sequence data. Botanical Journal of the Linnean Society 139: 323–338.
- Rønsted, N., H. Franzky, P. Mølgaard, J.W. Jaroszewski & S.R. Jensen. 2003. Chemotaxonomy and evolution of *Plantago* L. Plant Systematics and Evolution 242: 63–82.
- Shaw, J., E.B. Lickey, E.E. Schilling & R.L. Small. 2007. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. American Journal of Botany 94: 275–288.
- Shehata, A.A. & M.H.A. Loutfy. 2006. On the taxonomy of Plantaginaceae Juss. *sensu lato*: evidence from SEM of the seed coat. Turkish Journal of Botany 30: 71–84.
- Taberlet, P., L. Gielly, G. Pautou & J. Bouvet. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. Plant Molecular Biology 17: 1105–1109.
- Taskova, R., L. Evstatieva, N. Handjieva & S. Popov. 2002. Iridoid patterns of genus *Plantago* L. and their systematic significance. Zeitschrift für Naturforschung 57c: 42–50.
- Tay, M.L., H.M. Meudt, P.J. Garnock-Jones & P.A. Ritchie. 2010. DNA sequences from three genomes reveal multiple long-distance dispersals and non-monophyly of sections in Australasian *Plantago* (Plantaginaceae). Australian Systematic Botany 23: 47–68.
- Tolaba, J.A., M. Fabbioni & L. Novara. 1998. Plantaginaceae. Aportes Botánicos de Salta - Serie Flora 5(5): 1–37.
- Vriesendorp, B. & F.T. Bakker. 2005. Reconstructing patterns of reticulate evolution in angiosperms: what can we do? Taxon 54: 593–604.

## 5. Justificativa para a escolha da instituição de ensino no exterior

Considerando que este projeto de doutorado visa ampliar o conhecimento sobre o gênero *Plantago*, a escolha pela Universidade de Copenhaga (*Københavns Universitet*) é muito natural. Primeiramente, nessa instituição de ensino trabalhou o botânico dinamarquês Knud Rahn (1928 – 2013), o maior estudioso de *Plantago* do Século XX, e autor de importantes obras tratando das Plantaginaceae (*stricto sensu*) da América do Sul, com destaque para a Flora Ilustrada Catarinense (Rahn 1966), a Flora Ilustrada de Entre Ríos (Rahn 1979) e a Flora Fanerogâmica Argentina (Rahn 1995). Além disso, no herbário da Universidade de Copenhaga se encontram amostras das espécies de *Plantago* coletadas por esse botânico, que certamente auxiliarão o desenvolvimento deste trabalho. O fato de que nessa instituição trabalha a professora Nina Rønsted, que coordena um grupo de pesquisa dedicado a estudar a filogenia de *Plantago*, também pesou grandemente na escolha por essa universidade.

Adicionalmente, além do rico histórico de estudos com o gênero *Plantago*, a Universidade de Copenhaga é uma instituição de ensino de excelência, com infraestrutura moderna e completa, incluindo laboratórios com equipamentos de ponta, que possibilitarão o desenvolvimento das análises moleculares para a revisão filogenética de *Plantago*.

## 6. Plano de atividades e cronograma

O início das atividades está previsto para o dia 01/08/2014, e a duração total do curso de doutorado é de três anos. Segue uma previsão das atividades a serem desempenhadas em cada ano:

Primeiro ano: produção de um banco de dados das coleções existentes de *Plantago* seções *Virginica* e *Oliganthos* com base na literatura (floras e monografias) e nas coleções dos principais herbários europeus e sul-americanos. Planejamento do trabalho de campo, estabelecendo colaboradores e contatos, e fazendo os pedidos de licença de coleta necessários. Início da identificação e sequenciamento dos materiais de *Plantago* já disponíveis. Frequentar os cursos "Introduction course for new PhD students", "Project Leadership", "Molecular markers in Plant Genetics" e "Phylogenetic Systematics and Molecular Dating". Organização e identificação dos materiais de *Plantago* e gêneros afins da coleção do herbário do Museu de História Natural da Dinamarca. Participar do Encontro Nórdico de Botânica Tropical, em agosto de 2014 em Copenhaga.

Terceiro ano: conclusão do sequenciamento das amostras de *Plantago*. Análises filogenéticas finais. Análise filogeográfica. Escrever e submeter os manuscritos resultantes dos estudos realizados. Apresentar os resultados no Congresso Internacional de Botânica, na China em 2016. Participar de atividades de ensino. Entrega e defesa da Tese de Doutorado.

[illegible]