

**ESTUDOS BIOGEOGRÁFICOS EM *PIRESIA* SWALLEN
(POACEAE, BAMBUISOIDEAE)**



HÉDINA BASILE BEZERRA

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA

Estudos biogeográficos em *Piresia Swallen* (Poaceae, Bambusoideae)

Hédina Basile Bezerra

Monografia apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia, como exigência para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Dra. Maria Luiza Silveira de Carvalho

Coorientadora: Dra. Alessandra Selbach Schnadelbach

Salvador, BA

2017

Banca Examinadora

Data da defesa: 8 de setembro de 2017

Dr. Lizandro N. Peraza-Flores
Universidade Estadual de Feira de Santana

M. Sc. Leandro Araujo Argôlo
Universidade Federal da Bahia

Dra. Maria Luiza Silveira de Carvalho
Universidade Federal da Bahia
Orientadora e Presidente da banca

Agradecimentos

À Universidade Federal da Bahia, ao Instituto de Biologia e ao Laboratório de Genética e Evolução Vegetal (LAGEV) por toda a infraestrutura fornecida ao longo de toda a graduação, bem como para a realização do presente trabalho;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB), pelo auxílio financeiro fornecido para o projeto de pesquisa ao qual o presente trabalho está inserido (Projeto PRONEM T.O.0020/2011);

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico (CNPq), pela bolsa de Iniciação Científica que foi concedida para a realização deste trabalho;

À Dra. Maria Luiza Silveira de Carvalho, que me adotou como filha, por me permitir dar continuidade aos seus passos, quando eu me encontrei definitivamente apaixonada pela genética. Por todo o seu apoio, entusiasmo e seus ensinamentos que me ajudaram a seguir firme e chegar até aqui;

À Dra. Alessandra Selbach Schnadelbach, que desde o começo da graduação me recebeu como “híbrida” entre a genética e a cultura de tecidos. Esta vivência me permitiu encontrar minha paixão na Biologia! Por todos os seus ensinamentos e apoio ao longo deste caminho;

À Plataforma de Sequenciamento do Instituto Gonçalo Muniz (Fiocruz-BA) pela parceria com o LAGEV que proporcionou o sequenciamento das regiões de DNA, essenciais à realização deste trabalho;

Ao Laboratório de Evolução e Biogeografia (LEBI), através do prof. Dr. Henrique Batalha Filho e seus alunos, especialmente a Léo e Ivan que me ajudaram muito, principalmente nesta reta final do trabalho;

À M. Sc. Gabriela Torres, por seu companheirismo e ensinamentos que sempre levarei comigo. Muito do que sou hoje é resultado de nossa convivência, que me permitiu crescer pessoal e profissionalmente;

Aos companheiros de LAGEV e também LCTV, que sempre me ajudaram, mesmo que sem perceber, e que proporcionaram um ambiente de trabalho extremamente agradável, onde a realização deste trabalho foi aproveitada da melhor maneira possível;

Aos meus mosqueteiros, Gustavo, Igor e Izabela, pela amizade e companheirismo, tanto nas horas divertidas como nos momentos de tempestade. Eu não teria conseguido chegar até aqui sem vocês. Não há como mensurar o quanto sou grata por tê-los ao meu lado!

As flores que a Biologia colocou em meu caminho, Eunice e Ivana, por suas amizades que sempre me deram força para seguir em frente;

Aos meus avós Emílio (*in memoriam*) e Lina que sempre foram os mais entusiasmados com a “netinha Bióloga”. A escolha da minha profissão, em especial a admiração pelas plantas se deve muito por sempre terem me mostrado o quão divertido era cuidar delas e vê-las crescer. À minha madrinha, por todo amor e sempre me incentivar a admirar a natureza desde pequena. E à toda a minha família, por todo o carinho sempre;

Aos meus pais Pina e Cláudio, por todos os ensinamentos, apoio e amor ao longo da vida. Quem sou hoje é resultado de toda a criação que recebi, sempre me incentivando a correr atrás dos meus sonhos. As minhas irmãs Rafa e Gabi, por sempre estarem ao meu lado em todos os momentos com todo o amor inestimável;

À Lucas, o anjo que a vida me trouxe. Por todo seu amor e companheirismo, que sempre me traz paz nos momentos que mais preciso, me ajudando a ser mais forte e seguir firme no caminho até aqui;

E por fim, a Deus e Nossa Senhora Aparecida, sempre ao meu lado me protegendo e guiando meu caminho com muita luz e bênçãos a cada passo que eu dou.

Resumo

Piresia é um gênero de bambus herbáceos que possui uma distribuição geográfica interessantemente disjunta, entre a Amazônia e Mata Atlântica. Pouco, no entanto, se sabe sobre sua história evolutiva, tanto no que diz respeito às suas relações filogenéticas, quanto aos padrões e processos que têm influenciado sua diversificação, que parecem ter reflexo na complexa morfologia de suas espécies. Por essa razão, o presente trabalho teve como objetivo estudar a biogeografia de *Piresia*, utilizando para tanto, regiões do DNA plastidial (*ndhF*, *rpl16*, *rpl32-trnL*, *trnD-psbM*, *trnD-trnT* e *trnL-trnF*) e análises de Inferência Bayesiana, datação molecular e de reconstrução de área ancestral com o intuito de estimar a origem e os principais eventos de divergência e diversificação do grupo. Os resultados indicaram que *Piresia* é constituído por três grupos, tendo divergido dentro de Olyreae no Mioceno Inferior, possivelmente em uma formação florestal que abrangia a América do Sul e parte da América Central, em condições climáticas que favoreceram a origem de duas linhagens: a do Mioceno (LM) e do Pleistoceno (LP). Em LM, a diferenciação parece estar relacionada à fragmentação das matas em decorrência de mudanças climáticas que diminuíram as áreas de contato entre a Amazônia e a Mata Atlântica. Dentro de LP, um evento de divergência ocorreu concomitantemente à separação dos dois biomas acima descritos, o que deu origem à formação de linhagens disjuntas no gênero (Linhagem do Pleistoceno da Mata Atlântica - LPMA e Linhagem do Pleistoceno da Amazônia - LPA). Essas parecem ter sido ainda influenciadas respectivamente por transgressões marinhas (na região costeira da Mata Atlântica) e pelo soerguimento andino e pelas modificações no curso dos rios (na Bacia Amazônica). Nesses dois grupos ainda existem questões não esclarecidas quanto aos limites específicos e as suas relações filogenéticas, tendo em vista a complexidade morfológica do grupo e prováveis eventos de hibridação. Ainda concluímos que parece existir uma correlação entre a distribuição geográfica das espécies e sua adaptabilidade a determinado nicho climático, que por sua vez, parece estar moldando a história evolutiva do gênero.

Palavras-chave: Bambus herbáceos, disjunção geográfica, filogenia, Olyreae, Poaceae

Abstract

Piresia is a genus of herbaceous that presents an interesting disjunct distribution between Amazonia and Atlantic Forest. However, its evolutionary history and phylogenetic relationships are still poorly resolved, as well as the patterns and processes that have been influencing the differentiation of its species, which seems to be related to the complex morphology of these species. Thence, the aim of present research was to study the biogeography of *Piresia*. For such purpose, plastidial DNA regions (*ndhF*, *rpl16*, *rpl32-trnL*, *trnD-psbM*, *trnD-trnT* e *trnL-trnF*) were used and Bayesian Inference, molecular dating and ancestor area reconstruction analyses were performed in order to estimate the origin and mainly divergence and diversification events within the group. The results indicate that *Piresia* is composed by three groups and its divergence within Olyreae was estimated on Middle Miocene. This divergence probably occurred when the vegetation comprised most of South America and part of the Central America, leading to the origin of two main lineages: Miocene Lineage (*LM*) and Pleistocene Lineage (*LP*). On *LM*, the differentiation within this group seems to be related to forest fragmentation due to the climate changes that decreased the contact area Amazonia and Atlantic Forest. On *LP*, a divergence event in *Piresia* took place concomitantly to the split between these two biomes, when two new lineages emerged (Atlantic Forest Pleistocene Lineage – *LPMA* and Amazonian Pleistocene Lineage - *LPA*). Also, these two lineages seem to have been influenced by marine transgressions (in the coast part of Atlantic Forest) and the Andean uplift and river cursing modifications (in Amazon basin). Furthermore, within these two groups there are still some not-clarified questions concerning their interspecific limits and phylogenetic relationships due to the complex morphology and possible hybridization events of their species. Finally, it was possible to conclude that there might be a correlation between the geographic distribution of the species and their adaptability to certain ecological niche which is probably molding the evolutionary history of the genus.

Keywords: Herbaceous bamboos, geographical disjunction, phylogeny, Olyreae, Poaceae

Índice

1. Introdução.....	1
1.1 Quem é <i>Piresia</i> e qual é a sua história?.....	1
1.2 Por que utilizar a biogeografia para compreender a história de <i>Piresia</i> ?.....	3
2. Objetivos.....	5
2.1 Geral.....	5
2.2 Específicos.....	5
3. Materiais e Métodos.....	6
3.1 Amostragem, extração de DNA, amplificação e sequenciamento.....	6
3.2 Edição de sequências, alinhamento e quantificação dos gaps.....	7
3.3 Análises filogenéticas.....	7
3.4 Datação molecular.....	7
3.5 Reconstruções biogeográficas.....	8
4. Resultados.....	9
4.1 Características das sequências.....	9
4.2 Análise filogenética e datação molecular.....	9
4.3 Reconstrução da área ancestral.....	10
5. Discussão.....	10
5.1 Origem de <i>Piresia</i> no Mioceno nas matas da América do Sul e o surgimento da Linhagem do Mioceno (LM).....	10
5.2 Disjunção no Plioceno e diversificação no Pleistoceno marcaram a história de <i>Piresia</i>	12
5.3 Distribuição de <i>Piresia</i> na atualidade e a sua relação com padrões de umidade.....	14
6. Conclusões.....	15
7. Referências.....	15
8. Anexos.....	21
Tabela 1.....	21
Tabela 2.....	22
Tabela 3.....	23
Figura 1.....	24
Figura 2.....	25
Figura 3.....	26
Figura 4.....	27

1. Introdução

1.1 Quem é *Piresia* e qual é a sua história?

Os bambus são todos os elementos que compõem a subfamília Bambusoideae, representando o grupo de Poaceae mais diversificado em florestas tropicais e subtropicais (Calderón & Soderstrom, 1980; Judziewicz & Clark, 2007; Bamboo Phylogeny Group - BPG, 2012; Kelchner & BPG, 2013), compondo um grupo de grande diversidade, com aproximadamente 115 gêneros e 1.400 espécies (BPG, 2012; Kelchner & BPG, 2013). Atualmente, esta subfamília é composta por três tribos (Arundinarieae, Bambuseae e Olyreae), que estão presentes em todos os continentes, com exceção da Antártida e Europa (Ohrnberger, 1999; Judziewicz et al., 1999; Judziewicz & Clark, 2007; Sungkaew et al., 2009; BPG, 2012; Kelchner & BPG, 2013). Os membros da tribo Arundinarieae, compreendem os bambus lenhosos e exclusivos de climas temperados, enquanto que Bambuseae é representada por membros também de hábito lenhoso, porém restritos à climas paleotropicals e neotropicais (Judziewicz et al., 1999; Judziewicz & Clark, 2007; Sungkaew et al., 2009; BPG, 2012; Kelchner & BPG, 2013). Por sua vez, Olyreae é composta por representantes de hábito herbáceo encontrados em regiões de climas tropicais, majoritariamente nos neotrópicos, com exceção de duas espécies, da África e Nova Guiné (Clark, 1990; Judziewicz et al., 1999; Judziewicz & Clark, 2007; BPG, 2012; Kelchner & BPG, 2013).

Olyreae compreende 21 gêneros e 122 espécies, distribuídas em três subtribos: Buergersiochloinae, Parianinae e Olyrinae (Oliveira, 2001, Judziewicz & Clark, 2007, BPG, 2012). A posição das inflorescências e o número e arranjo das espiguetas no corpo da planta constituem os principais caracteres diagnósticos entre os gêneros desta tribo, cujas poucas espécies são diferenciadas por caracteres morfológicos escassos (Judziewicz et al., 1999; Oliveira, 2001; Judziewicz & Clark, 2007). Em Olyreae encontra-se *Piresia* Swallen, o qual possui distribuição geográfica disjunta bastante peculiar, com espécies ocorrendo ou na Amazônia, ou na Mata Atlântica do Nordeste do Brasil (Figura 1 - A) (Soderstrom & Calderón, 1974; Judziewicz et al., 1999; Oliveira, 2001; Carvalho, 2013). Este gênero se difere de outros da mesma tribo pela presença de colmos dimórficos que podem ser eretos e possuir muitas folhas, ou decumbentes, essencialmente floríferos e com folhas reduzidas (Fig. 1 – B e C) (Soderstrom & Calderón, 1974; Judziewicz et al., 1999; Oliveira, 2001; Carvalho, 2013).

Atualmente são conhecidos para o gênero cinco espécies, das quais três ocorrem na Amazônia: *P. sympodica* (Döll) Swallen, *P. goeldii* Swallen e *P. macrophylla* Soderstr. (Swallen, 1964; Soderstrom, 1982); e duas na Mata Atlântica (*P. leptophylla* Soderstr. (Fig. 1 - E) e *P. palmula* M.L.S.Carvalho &

R.P.Oliveira (Fig. 1 – D à G) (Soderstrom, 1982; Carvalho et al., 2012). No entanto, existem evidências de novas espécies ainda não descritas (Fig. 1 - H), principalmente na Mata Atlântica, onde ocorre uma sobreposição morfológica entre e dentro das populações (Soderstrom, 1982; Judziewicz et al., 1999; Oliveira, 2001; Carvalho, 2013; Carvalho et al., in prep.).

Além da intrincada morfologia, as relações evolutivas de *Piresia* ainda não foram elucidadas, tendo em vista tanto os estudos ainda esparsos com bambus herbáceos (Ferreira et al., 2013; Baldini & Ortiz, 2014; Oliveira et al., 2014) quanto aqueles voltados ao próprio gênero (Carvalho, 2013, Carvalho et al. in prep.). A princípio, *Piresia* supostamente estaria relacionado aos gêneros *Buergersiochloa* Pilg., *Dyandrolyra* Stapf, *Mniochloa* Chase e *Ekmanochloa* A. Hitchcock (de onde derivou *Piresiella* Judzie., seu diminutivo) (Clayton & Renvoize, 1986). Entretanto, de acordo com trabalhos recentes, suas relações de parentesco parecem envolver os gêneros *Cryptochloa* Swallen, *Olyra* Linnaeus, *Reitzia* Swallen (Carvalho 2013; Carvalho et al. in prep.), *Diandrolyra* Stapf, *Parodiolyra* Soderstr. & Zuloaga e *Raddiella* Swallen (Oliveira et al., 2014). Dentro de *Piresia*, as relações entre as espécies, no entanto, ainda permanecem pouco esclarecidas, principalmente se for levado em consideração os resultados de Carvalho (2013) e Carvalho et al. (in prep.), nos quais as relações entre as espécies do gênero apresentam baixos valores de suporte, o que provavelmente tem relação com a possível origem recente do grupo e ocorrência de hibridações (Carvalho, 2013; Carvalho et al. in prep.).

Ainda mais interessante é o fato de que parece não existir correlação entre a distribuição geográfica das espécies (disjunta) e a origem do grupo, tendo em vista a não separação destas nesses estudos (Carvalho, 2013; Carvalho et al., in prep.). Essa ideia contraria muito do que se sabe sobre a história desse grupo, de acordo com as ideias de Soderstrom e Calderón (1974), que supunham que a história de *Piresia* estava relacionada à disjunção da Amazônia e da Mata Atlântica e ainda, refletida na sexualidade de suas espiguetas (flores). De acordo com esses autores, as espiguetas unissexuadas encontradas nas espécies da Mata Atlântica representariam uma condição ancestral, enquanto que as bissexuadas das espécies da Amazônia teriam derivado destas (Soderstrom & Calderón, 1974). A partir deste raciocínio, foi estabelecida uma hipótese para a origem e dispersão do gênero, assim como de outros em Olyreae, envolvendo um refúgio na Mata Atlântica, de onde as espécies teriam migrado para a Amazônia (Soderstrom & Calderón, 1974). Entretanto, recentemente foram descobertas espiguetas unissexuadas em plantas da Amazônia e bissexuadas na Mata Atlântica (Mauri et al., 2013), fato que contraria a hipótese de Soderstrom e Calderón (1974) indicando que a história evolutiva do gênero ainda carece de estudos, pois pouco se sabe sobre os fatores, padrões e processos que têm levado à diferenciação do

grupo (Soderstrom & Calderón, 1974; Carvalho, 2013; Carvalho et al. in prep.). Nesse contexto destaca-se o papel da utilização de abordagens biogeográficas na compreensão de quais eventos e processos ocorreram ao longo do curso evolutivo de *Piresia*.

1.2 Por que utilizar a biogeografia para compreender a história de *Piresia*?

Biogeografia é o ramo da ciência que busca o entendimento da distribuição da biodiversidade, visando a compreensão desta distribuição no passado e/ou no presente de dado organismo ou grupo de organismos, utilizando-se de estudos dos padrões e processos que ocorreram ao longo do tempo, que resultaram na distribuição dos organismos que encontramos atualmente (Brown & Lomolino, 2006). Dentro deste contexto, a biogeografia histórica visa reconstruir a origem e processos de dispersão e extinção destes organismos e de como estes processos influenciaram a sua distribuição geográfica atual (Brown & Lomolino, 2006). Adicionalmente, com o avanço das análises moleculares e através de ferramentas computacionais robustas, estimativas temporais do surgimento e diversificação de organismos tem se tornado possíveis (Cox et al, 2016).

Visto isso, para um estudo biogeográfico bem estruturado, faz-se o uso de dados climáticos, geográficos e até geológicos, tanto do presente quanto do passado, que em conjunto, podem possibilitar a reconstrução de eventos e processos que moldaram a história evolutiva do grupo em questão (Brown & Lomolino, 2006). Para tal, é necessário levar em consideração os eventos que levaram à formação e modificações estruturais que ocorreram ao longo do tempo, a exemplo dos biomas da América do Sul no caso do presente estudo. Isso porque, ao longo do tempo, eventos geológicos ocorrentes no continente modificaram o clima, a configuração das bacias hidrográficas e conseqüentemente a formação dos seus biomas (Lavínia & Fauth, 2011).

Portanto, no caso de *Piresia*, tendo em vista a distribuição geográfica de suas espécies, disjunta entre a Amazônia e na Mata Atlântica, é importante levar em consideração não somente a distribuição do gênero, mas também as características intrínsecas a estes biomas. Atualmente, estes dois biomas são separados pela Diagonal Seca da América do Sul, que compreende três diferentes biomas Chaco, Cerrado e Caatinga (Ab'Saber, 1977). Contudo, acredita-se que a Amazônia e a Mata Atlântica foram conectadas em diversos momentos através da diagonal seca, durante períodos climáticos que apresentaram flutuações nos níveis de umidade mais altos do que os atuais (Auler et al., 2004). Adicionalmente, sabe-se que a Amazônia e Mata Atlântica apresentam altos índices de biodiversidade, estando eles entre os maiores do mundo (Hubbell et al., 2008).

A grande diversidade encontrada tanto na Amazônia (cerca de 40% total mundial de remanescentes de floresta (Hubbell et al., 2008)) como na Mata Atlântica (compreendendo entre 1 a 8% da biodiversidade de todo planeta (Silva & Casteleti, 2003)) são o reflexo de fatores como qualidade do solo, mudanças climáticas e geológicas que ocorreram ao longo da formação destas florestas (Antonelli & Sanmartín, 2011).

De maneira geral, as mudanças climáticas ocorridas ao longo do período Quaternário (mudanças de temperatura, umidade e nível dos oceanos) ocasionadas por sucessivos eventos de glaciação, tiveram grande influência na história das florestas tropicais. Por exemplo, na medida que o aquecimento e resfriamento do planeta influenciaram as expansões e retrações da floresta e organismos residentes (Flower & Kennett, 1994; Morley, 2000) e alteraram limites da costa em geral, refletindo em mudanças estruturais na Mata Atlântica (Sugio et al., 2013). Adicionalmente, a formação da cordilheira dos Andes teve grande influência no desenvolvimento do bioma amazônico, pela deposição de sedimentos, mudança nos padrões de umidade e do curso dos rios nesta região (Hoorn et al., 2010). Como organismos residentes nestes dois biomas, todos estes eventos podem ter influenciado a história evolutiva das espécies de *Piresia*, assim como vem sendo reportado para diversos organismos (Sobral-Souza et al., 2015).

Aliado a estes fatores, em estudos com foco em grupos vegetais, vale destacar o uso de marcadores moleculares de regiões plastidiais e nucleares, os quais vêm sendo amplamente utilizados em estudos de enfoque sistemático e/ou evolutivo entre diversos níveis taxonômicos, que proporcionam o acesso a informações em uma escala de tempo mais abrangente do que somente utilizar, por exemplo, dados morfológicos (Wolfe et al., 1987; Small et al., 2004).

Com isto, vale destacar a importância da escolha correta dos marcadores moleculares a serem utilizados, adequados ao tipo de pergunta que se quer responder (Prince, 2015). Esta escolha está estritamente relacionada às taxas evolutivas das regiões de DNA escolhidas, que são o reflexo de um maior ou menor nível de conservação destas regiões (Small et al., 2004; Karehed et al., 2008). Geralmente, regiões plastidiais são conhecidas por apresentarem taxas evolutivas mais lentas do que regiões nucleares, no entanto, mesmo dentro destes dois tipos de região existem taxas evolutivas diferentes devido ao fato de apresentarem trechos de DNA codificantes ou não-codificantes (Wolfe et al., 1987). Regiões mais conservadas (codificantes) permitem detectar a história evolutiva mais antiga, pois mais tempo é necessário para que mutações se fixem no genoma dos indivíduos do grupo em questão, ao passo que regiões menos conservadas (não-codificantes) são ideais para abordagens

evolutivas em grupos mais recentes, pois uma quantidade maior de mutações é fixada ao longo do tempo (Karehed et al., 2008). Estas últimas, apresentam então taxas evolutivas mais rápidas dentro das regiões plastidiais (Wolfe et al., 1987), e conseqüentemente têm sido amplamente utilizadas para responder questões evolutivas recentes (Karehed et al., 2008), como parece ser o caso do gênero aqui estudado (Carvalho, 2013; Carvalho et al. in prep.).

Neste contexto, diversos estudos vem utilizando regiões de DNA plastidial, como por exemplo Clark et al. (1995) que utilizaram o gene *ndhF* em uma revisão taxonômica da família Poaceae; Kelchner & BPG (2013) que também utilizaram esta mesma região, acrescidos de dois *introns* (*rpl16* e *rps16*) e dois espaçadores intergênicos (*trnD-trnT* e *trnT-trnL*) em estudos filogenéticos da subfamília Bambusoideae; Yang et al. (2010) que utilizaram juntamente com regiões nucleares as regiões plastidiais *psbA-trnH*, *rpl32-trnL* e o *intron rps16* em estudo acerca de *Bambusa* (Poaceae: Bambusoideae) e gêneros correlatos.

Visando elucidar as relações filogenéticas de *Piresia*, Carvalho et al. (in prep.) utilizaram de regiões de DNA plastidial e nuclear. Contudo, as regiões utilizadas se demonstraram pouco informativas e Carvalho et al. (in prep.) não obtiveram dados suficientes para que as relações internas de *Piresia* fossem esclarecidas. Com isso, o uso de novas regiões de DNA plastidial mais informativas que permitam uma melhor compreensão da relação entre as espécies, em conjunto com análises biogeográficas para compreensão da história evolutiva de *Piresia* se fazem necessários.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho visa compreender a história evolutiva do gênero *Piresia* através de uma abordagem biogeográfica, identificando padrões e processos que levaram à sua atual distribuição, bem como contribuir no entendimento das relações interespecíficas deste gênero.

2.2 Objetivos Específicos

- Reconstruir a filogenia de *Piresia*, utilizando regiões de DNA ainda pouco exploradas para Olyreae;
- Acessar as possíveis datas de origem e diversificação do grupo através de análises de datação molecular;

- Reconstruir o provável centro de origem para o grupo e compreender sua dispersão;
- Identificar os principais eventos que podem ter influenciado a história evolutiva do gênero.

3. Materiais e Métodos

3.1 Amostragem, extração de DNA, amplificação e sequenciamento

Foram selecionadas amostras da maior parte das espécies e morfotipos conhecidos de *Piresia* (Carvalho 2013; Carvalho et al, in prep.) para o *ingroup* e *Cryptochloa strictiflora* E. Fourn. foi utilizada como *outgroup*, uma vez que *Cryptochloa* constitui o grupo irmão de *Piresia* (Carvalho, 2013; Oliveira et al., 2014) (Tabela 1). As amostras de *Piresia* foram obtidas a partir de materiais herborizados, ou de materiais desidratados em sílica gel, provenientes de estudos anteriores com o grupo (Carvalho 2013; Carvalho et al. in prep.). A extração do DNA vegetal seguiu o protocolo adaptado de Rogers & Benedict (1985) utilizado para materiais mumificados e herborizados.

Foram utilizadas seis regiões de DNA plastidial, incluindo sequências parciais do gene *ndhF* (primeiros 1.550 pb), o íntron *rpl16*, e os espaçadores intergênicos *rpL32-trnL*, *trnD-psbM*, *trnD-trnT* e *trnL-trnF*, as quais foram amplificadas através de reações de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) utilizando o kit Top Taq Master Mix (Qiagen), seguindo as recomendações do fabricante. As reações foram realizadas em um volume final de 15,4µL contendo 0,2µM de cada primer e aproximadamente 30ng de DNA. Foram testadas diferentes condições de amplificação para cada primer (Tabela 2). Para as amostras mais problemáticas (materiais herborizados, principalmente), foram feitas duas reações consecutivas de PCR, sendo utilizando o material obtido na primeira reação como *template* para a reação subsequente, com a adição de 0,3 µl de DMSO (10%), 0.06mg/ml BSA e 0,97M de Betaína para otimizar o funcionamento das reações. Após a amplificação, os produtos foram analisados através de corridas eletroforéticas em gel de agarose (1,4%), coradas com o marcador GelRed™ (Biotium), e visualizados através de transluminador UV. OS géis foram capturados em software WiseCapture II. Posteriormente, os produtos da PCR foram purificados com PEG (polietilenoglicol) 11% (Paithankar & Prasad, 1991) e sequenciados (apenas para fita *forward*) no Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz (Fiocruz-BA). As sequências do *outgroup* (Tabela 1), foram obtidas no banco de dados GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/JX235348.1>).

3.2 Edição de sequências, alinhamento e quantificação dos gaps

As sequências obtidas foram editadas no software Geneious 6.1.8 (Biometters Ltda.), com posteriores ajustes manuais. Em seguida, as mesmas foram alinhadas pelo software MEGA 7 (Kumar, et al. 2016), utilizando o algoritmo MUSCLE (Edgar, 2004). Dessa maneira, foram obtidas matrizes individuais para cada região de DNA, as quais, posteriormente, foram combinadas em uma só matriz para as análises.

Para a utilização das mutações em inserções e deleções (*indels*) ou gaps nas análises, foi gerada uma matriz binária com os dados combinados, com o auxílio do software SeqState, 1.4.1 (Müller, 2005), que codifica gaps através do método MCIC (*Modified Complex Indel Coding*) (Müller, 2006). Em cada região, foram contabilizados o comprimento total em pares de base (pb), a quantidade de substituições e os gaps para todos os indivíduos de *Piresia* e grupo externo. A contagem foi feita manualmente e foram analisados somente os gaps que estavam em posições com dados completos para todas as sequências. Foram somados os sítios com substituições e gaps e deste modo, foi estimada a porcentagem de contribuição dos dados informativos para cada região utilizada.

3.3 Análises filogenéticas

As análises filogenéticas foram realizadas com duas matrizes distintas: uma contendo as sequências de todas regiões combinadas, e outra com as sequências de todas as regiões combinadas mais a matriz de gaps, a fim de testar a relevância do seu uso como dados complementares na Inferência Bayesiana (BI). Para tanto, foram gerados modelos de substituição para cada região através do MrModelTest 2.0 (Posada, 2008), sendo selecionados a partir do critério AIC (*Akaike Informative Criteria*) (Akaike, 1974). Os modelos selecionados foram GTR+G (*ndhF*, *trnD-psbM* e *trnL-trnF*), GTR+I (*rpl16* e *trnD-trnT*) e HKY+G (*rpl32-trnL*). As análises de BI foram realizadas através do software MrBayes 3.2.6 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003), na plataforma XSEDE do Cipres Science Gateway v.3.3 (Miller et al., 2010). Para a visualização da topologia da árvore de consenso de maioria foi utilizado o programa FigTree 1.3.1 (Rambaut & Drummond, 2009). A probabilidade posterior (PP) de cada ramo foi calculada.

3.4 Datação molecular

A análise de datação molecular foi realizada utilizando apenas a matriz combinada com gaps, em virtude de esta ter apresentado maior resolução e suporte na BI. O programa BEAST v1.8.4 foi utilizado com *inputs* gerados no BEAUTi (Drummond et al., 2012), considerando o modelo de substituição HKY

para todas as regiões analisadas. Para a calibração temporal, foi utilizado um relógio molecular estrito sob um *prior* uniforme (valor inicial 0.0014, valor máximo 0.0016 e valor mínimo 0.0011), considerando-se os valores entre $1.1-1.6 \times 10^{-4}$ (valor em milhões de anos), estimados por Wolfe et al. (1987) para grupos de Poaceae. O modelo de especiação utilizado nesta análise foi o Yule Process (Gernhard, 2008), sendo realizadas duas corridas independentes com o mesmo *input* gerado no BEAUTi, com 100 milhões de gerações, reamostragens a cada 5 mil gerações e burn-in de 10%. Os resultados foram analisados no programa Tracer v1.6 (Rambaut & Drummond, 2009), para a verificação da convergência entre as corridas e *Effective Sample Size* (ESS), onde foram considerados apropriados apenas valores acima de 200. Em seguida, os dados de ambas as corridas foram combinados nos softwares LogCombiner e TreeAnnotator (Drummond et al., 2013) do pacote do BEAST v1.8.4. Para a visualização da topologia, foi utilizado o programa FigTree 1.3.1 (Rambaut & Drummond, 2009).

3.5 Reconstrução da área ancestral

Foi utilizado o pacote BioGeoBEARS (Matzke, 2013) implementado no R (R Core Team, 2016), para reconstrução de área ancestral com base na filogenia datada. Foram aplicados três modelos distintos: Dispersão, extinção e cladogênese (DEC), Dispersão e vicariância (DIVALIKE) e Reconstrução de área ancestral (BAYAREALIKE). Além disto, foi adicionado o parâmetro “j” aos modelos para acrescentar a possibilidade de efeito fundador e dispersão em larga escala

Para a seleção de áreas, foi utilizada uma combinação de regiões propostas por autores distintos, Fittkau (1969) e Morrone (2006), resultando em cinco áreas utilizadas: A = “Várzea”, representando a região alagadiça amazonense, B = “Amapá” e C = “Pará”, para porções específicas desses estados (Morrone, 2006), D = “Cariri”, refletindo o extremo norte do nordeste brasileiro, e E = “Tupi”, que compreende a porção sul da Bahia e as porções costeiras do sudeste e sul até Santa Catarina (Fittkau, 1969) (Fig. 1). A partir da escolha dessas regiões, foi elaborada uma matriz de regiões biogeográficas (de presença e ausência) dos indivíduos de *Piresia*, que foi analisada no R juntamente com a filogenia datada. Por fim, para a escolha dos modelos mais adequados, foram considerados como igualmente apropriados para a reconstrução de área ancestral aqueles que apresentaram valor de Delta AIC acima de 2.0 (Anderson & Burnham, 1998).

4. Resultados

4.1 Sequências obtidas

As informações sobre cada região de DNA utilizada estão descritas na Tabela 3. As edições nas sequências, eliminando extremidades de má qualidade resultaram na exclusão dos seguintes pares de base (pb) (no início e final da sequência, respectivamente): *ndhF* 16 e 250pb, *rpl16* 62 e 297pb, *rpl32-trnL* 100 e 359pb, *trnD-psbM* 87 e 261pb, *trnD-trnT* 46 e 337pb e *trnL-trnF* 115 e 283pb. A matriz combinada apresentou de 5.141 pares de base (pb). Da sequência parcial do gene *ndhF* foram analisados 1380pb. Para as regiões *rpl16*, *rpl32-trnL*, *trnD-psbM*, *trnD-trnT*, e *trnL-trnF* foram analisados 814, 610, 834, 866 e 637pb, respectivamente. Entre todas as regiões, o gene *ndhF* foi o mais informativo, tanto em quantidade de substituições nucleotídicas, quanto em quantidade de gaps, constituindo 51,6% do total de caracteres informativos analisados (Tab. 3).

4.2 Análise filogenética e datação molecular

A topologia fornecida pela análise do MrBayes foi idêntica a encontrada ao final da análise de datação molecular. Por este motivo, optou-se por apresentar apenas o cronograma de diversificação do gênero (Figura 3). Com base nestas análises, estimou-se que a linhagem que deu origem ao gênero *Piresia* divergiu do grupo externo em cerca de 22 milhões de anos - Ma. O primeiro evento de divergência dentro de *Piresia* ocorreu em 13,2 Ma, com posterior diversificação a partir de 8,9Ma na linhagem denominada como Linhagem do Mioceno – LM (PP = 1,0), constituída por *P. palmula* (de Igrapiúna - BA, da Mata Atlântica) e *P. goeldii* (de Belém - PA, da Amazônia). Posteriormente (4,6 Ma), a segunda linhagem (Linhagem do Pleistoceno – LP) divergiu em outros dois grupos (PP = 1,0), sendo que um deles viria a se diversificar na Mata Atlântica (Linhagem do Pleistoceno da Mata Atlântica - LPMA) e o outro, na Amazônia (Linhagem do Pleistoceno da Amazônia - LPA). A LPMA foi a primeira a irradiar, há cerca de 2,06 Ma (PP = 1,0) e, dentro desta, a população de *P. leptophylla* de Una – BA foi a primeira a divergir. Em seguida (~ 1,74 Ma, PP = 0,81), houve a divergência dentro da linhagem que originou as demais populações de *P. leptophylla* (a partir de 650 mil anos; PP = 1,0) e os morfotipos da Mata Atlântica (a partir de 1,38 Ma; PP = 1,0). Nesta linhagem, foram identificados três grupos: MA1 que compreende as populações de *P. leptophylla* originadas a partir de 650 mil anos; MA2 que abrange *Piresia* sp.1 e os morfotipos B e F, originados no sul da Bahia a partir de 1,23 Ma; e MA3 composto pelos morfotipos A e E (da Bahia) e F (de Pernambuco), que surgiram a partir de 1,1 Ma (Fig. 3).

A irradiação da LPA ocorreu mais recentemente, há cerca de 770 mil anos (PP = 1,0) e neste grupo primeiro divergiu a população de *P. goeldii* de Manaus – AM (PP = 1,0), grupo irmão do clado formado por *P. sympodica* (de Porto Grande – AP e Belém – PA) que incluiu a população de *P. goeldii* de Santa Isabel - PA (PP = 1).

4.3 Reconstruções biogeográficas

A análise de reconstrução de área ancestral revelou que os modelos DEC+J, DIVALIKE+J e BAYAREALIKE+J foram igualmente apropriados para explicar os processos que ocorreram ao longo do curso evolutivo de *Piresia*. Os resultados indicaram uma maior probabilidade para a origem de *Piresia* em duas regiões: C (Pará) e E (Tupi, da porção sul da Bahia e a região costeira do sudeste e sul até Santa Catarina), seguida de uma divergência que deu origem a duas linhagens (LM e LP). A primeira (LM), apresentou um cenário similar, indicando as mesmas áreas como possíveis áreas ancestrais. Por sua vez, a segunda linhagem (LP) apresentou uma maior probabilidade de origem na região E. Posteriormente, LP divergiu em duas linhagens distintas, LPMA e LPA, de modo que LPMA teria surgido na região E, se diversificado na mesma e posteriormente se dispersado para a região D (extremo norte do nordeste brasileiro) em momentos distintos e LPA haveria surgido na região C e posteriormente haveria se dispersado para as regiões A e B (Amapá).

5. Discussão

5.1 Origem de *Piresia* no Mioceno nas matas da América do Sul e o surgimento da Linhagem do Mioceno (LM)

Os resultados mostrados nesse estudo, indicam que a linhagem ancestral de *Piresia* divergiu do grupo externo durante o Mioceno Inferior (ca. 22 Ma) (Fig. 3 - I), seguida do primeiro evento de divergência dentro do gênero a partir de 13,2 Ma (Fig. 3 - II). Durante boa parte desse período, entre ~16 a 13,6 Ma (até final do Mioceno Médio) existiu um ótimo climático (*Mid-Miocene Climatic Optimum* - MMCO), com temperaturas altas e elevados índices de umidade em todo planeta (Morley, 2000). Neste período provavelmente havia um contínuo florestal entre a Mata Atlântica e Amazônia (abrangendo até parte da América Central) que sofria expansão ou retração em condições climáticas favoráveis (como o MMCO) ou desfavoráveis (Morley, 2000) (Fig. 3). Neste cenário, é possível supor que o ancestral mais próximo

de *Piresia* já estava presente nos neotrópicos, distribuído por toda essa extensão vegetacional. Um resultado similar foi proposto recentemente por Baldini & Ortiz (2014) para o gênero *Cryptochloa* Swallen, próximo à *Piresia*. Neste trabalho, o provável centro de origem e diversificação de *Cryptochloa* seria na América Central, demonstrando assim que o ancestral de *Piresia* poderia estar distribuído nesta região.

Adicionalmente, de acordo com dados fornecidos por registros fossilíferos de pólen, houve um aumento da diversidade nesse contínuo vegetacional por volta de 13,7 Ma (Hoorn et al., 2010), período próximo à primeira divergência de *Piresia*, nas linhagens LM e LP, há aproximadamente 13,2 Ma (Fig. 3 - II). Neste período as regiões C (Pará) e E (costa do sul da Bahia até Santa Catarina) foram identificadas como áreas ancestrais igualmente prováveis.

Nessa primeira divergência do grupo, a possibilidade igual de duas regiões ancestrais não é conclusiva em relação à hipótese levantada por Soderstrom & Calderón (1974). Estes autores propuseram que a origem do grupo teria ocorrido na Mata Atlântica, com posterior dispersão e diversificação para a Amazônia. Esta origem explicaria tanto sua distribuição disjunta quanto a evolução floral ocorrida entre as espécies desses dois biomas (flores bissexuadas tornando-se unissexuadas). Entretanto, segundo os dados aqui apresentados e de acordo com outros trabalhos com o grupo (Carvalho, 2013; Mauri et al., 2013; Carvalho et al., in prep.), não existe uma disjunção associada à origem do grupo, acrescida da existência de flores bissexuadas e unissexuadas em ambos os biomas (Carvalho, 2013; Mauri et al., 2013).

Desta maneira, com base nos resultados aqui apresentados, uma região próxima à Amazônia seria um provável centro de origem de *Piresia*, principalmente considerando-se a proximidade com *Cryptochloa*, que apresenta seu centro de diversidade na América Central e também é distribuído na América do Sul (Bardini & Ortiz, 2014) de modo similar à *Piresia*. Posteriormente, os indivíduos de *Piresia* haveriam se dispersado para a Amazônia e Mata Atlântica, onde hoje se concentra a maior parte de sua diversidade.

Depois do final do MMCO, houve um período de rápido resfriamento global (até meados de ~10 Ma), que ocasionou a diminuição de temperatura e umidade em quase todo o planeta (Flower & Kennett, 1994; Pound et al., 2012). Isto se refletiu em um momento de estagnação da diversificação de organismos, mesmo nas áreas de climas tropicais (Flower & Kennett, 1994; Pound et al., 2012). Essa alteração drástica no clima pode ter ocasionado a retração das matas da América do Sul e Central, diminuindo as áreas de contato das espécies, levando à eventos de divergência, mas mantendo uma região de contato entre a Amazônia e a Mata Atlântica em regiões mais úmidas (Fig. 3). Findado esse período, houve um aumento

nas médias térmicas do planeta (não tão expressivos como o MMCO), que levaram ao desenvolvimento das vegetações de clima seco (Pound et al., 2012). Deste modo, não houve o favorecimento da expansão de florestas mais úmidas nas regiões centrais entre Mata Atlântica e a Amazônia por exemplo. Consequentemente, ocorreu um isolamento temporário dos grupos de *Piresia*, mas que apresentaram a diversificação da LM nestes dois biomas separadamente.

Durante esse período (Mioceno Médio a partir de 8,9 Ma) ocorreu a diversificação de LM (Fig. 3), nas regiões biogeográficas C e E que hoje corresponderiam às porções da Amazônia e Mata Atlântica (Fig. 2). À esta linhagem pertencem as espécies *P. goeldii* (de Belém - PA) e *P. palmula* (Igrapiúna - BA), sendo a primeira amplamente distribuída pela Amazônia e a segunda, uma espécie microendêmica do sul da Bahia, condição essa que pode representar um relictos dessa linhagem para a região da Mata Atlântica.

5.2 Disjunção no Plioceno e diversificação no Pleistoceno marcaram a história de *Piresia*

O período durante o Plioceno é bem pouco documentado para a América do Sul (Ortiz-Jaureguizar & Cladera, 2006), no entanto, sabe-se que foi uma época de clima frio e seco, com abundância de gramíneas C4, que conseguiram se diversificar e se expandir nas regiões centrais da América do Sul, juntamente com porções de matas úmidas, que começaram a se restringir às regiões costeiras, onde o clima era ainda quente (Ortiz-Jaureguizar & Cladera, 2006; Markgraf et al., 1996). Dessa maneira, a retração das matas úmidas levou ao menor contato entre as populações, o que pode ter levado ao surgimento de novas linhagens, por exemplo no surgimento de LPMA e LPA por volta de 4,6 Ma (Plioceno), enquanto as matas da costa do Nordeste e da Região Norte ainda estavam em contato (Fig. 3). Como observado nos resultados obtidos pelo modelos de reconstrução ancestral, a região E seria a área ancestral mais provável destas duas linhagens, que se diversificaram somente no Pleistoceno, ocupando as regiões D e E (LPMA) e A, B e C (LPA).

O Pleistoceno foi uma época caracterizada por diversos períodos glaciais e interglaciais que exerceram grande influência sobre as condições climáticas que afetaram principalmente eventos de especiação, extinção e mudanças nos padrões de distribuição da biota (Hammen, 1974; Fritz et al., 2007). Apesar de regiões tropicais terem se mantido relativamente estáveis ao longo das mudanças climáticas ocorridas em diversas épocas geológicas, durante o Pleistoceno as mudanças decorrentes dos períodos de glaciação foram drásticas ao ponto de influenciar até mesmo estas regiões, de forma bastante semelhante ao que ocorreu no hemisfério norte (Hammen, 1974). Apesar dos poucos dados, sabe-se que modificações

expressivas no clima durante o Pleistoceno Inferior ocorreram entre 1,4-1,3 Ma e 0,9 Ma (Pisias & Moore, 1990), ao longo do *Mid-Pleistocene Transition* quando se iniciaram os períodos glaciais (Honisch et al., 2009). Neste período, registrou-se a primeira glaciação mais expressiva que, de modo semelhante a outros momentos de glaciações, proporcionou a regressão do nível dos oceanos (Clapperton, 1990).

Curiosamente, os momentos de diversificação dentro de LPMA coincidem com registros de glaciações aqui descritos, o que provavelmente se deu em decorrência da exposição da plataforma continental durante as regressões marinhas. Nestes momentos, houve o aumento da disponibilidade de habitats onde a biota podia se diversificar e dispersar, expandindo então os limites costeiros da Mata Atlântica (Leite et al., 2016), como foi o caso nas diversas irradiações de *Piresia* dentro da LPMA. O início de diversificação para esse grupo foi aqui estimado por volta de 2,06 Ma, ainda no Pleistoceno Inferior, possivelmente na região biogeográfica E (na porção sul da Bahia). Neste período ocorreu a divergência de *P. leptophylla* (Una - BA), grupo-irmão de toda a linhagem LPMA. Posteriormente, LPMA se diversificou nos grupos MA2 e MA3 (a partir de 1.38Ma), além da irradiação de *P. leptophylla* (em torno de 0,65 Ma) para o norte da costa (MA1) (Fig. 3) (Jesus, 2017). Todos os eventos de diversificação durante o Pleistoceno proporcionaram então, a dispersão dos grupos de LPMA em direção ao norte da costa, que se estabeleceram também na região biogeográfica D (Fig. 2), onde algumas espécies estão presentes atualmente em Pernambuco e no Rio Grande do Norte (Jesus, 2017).

A região amazônica sofreu grande influência não só de mudanças climáticas no Pleistoceno, como também de modificações estruturais resultantes do processo de soerguimento dos Andes que se iniciou no Mioceno Médio (Hoorn et al., 2010). Este evento geológico resultou na origem do rio Amazonas e seus afluentes, além de modificações ao longo do curso do mesmo (Hoorn et al., 1995). Nesta região, o clima oscilou entre períodos secos e úmidos, que aliados aos reajustes no nível dos rios, deram origem a uma estruturação em mosaico nas regiões de várzea (Hoorn et al., 2010). Estas regiões fragmentadas haveriam passado por diversos processos de retração (Haffer, 1969; Vanzolini & Willians, 1970) formando áreas de refúgio com condições climáticas favoráveis à manutenção da biota (Haffer, 1969). Em períodos mais quentes e úmidos, estes fragmentos se expandiriam e possibilitavam o contato entre os grupos que estavam isolados anteriormente (Haffer, 1969; Vanzolini & Willians, 1970). Nestas áreas de recontato, muitas espécies podem ter passado por processos de hibridização (Haffer, 1969; Vanzolini & Willians, 1970). Esta pode ser uma explicação para as interações entre *P. goeldii* e *P. sympodica*, de LPA, identificadas neste presente trabalho. A diversificação desse grupo surgiu tardiamente (a partir de 0,77 Ma), seguida de irradiação em 0,33 Ma nas regiões biogeográficas A e C e outra irradiação em 0,16

Ma na região biogeográfica B (Figs. 2 e 3). Neste contexto, os eventos de diversificação dentro de *Piresia* podem ser o reflexo da história de modificações na própria estruturação da Amazônia. Ainda, de acordo com os resultados encontrados nesse estudo para essa linhagem, percebe-se que a falta de resolução em suas relações filogenéticas podem ser resultado de eventos de especiação e/ou hibridação em zonas de contato nestes períodos de expansão dos fragmentos da Amazônia. Desta maneira, há uma necessidade de estudos mais aprofundados nesse grupo (como abordagens filogeográficas, por exemplo) para a elucidação da relação entre estas espécies.

5.3 Distribuição de *Piresia* na atualidade e a sua relação com padrões de umidade

As espécies e/ou morfotipos conhecidos em *Piresia* são encontrados normalmente em matas com sombreamento denso, com níveis de umidade consideravelmente altos (em torno de 70%) e temperaturas amenas, variando em média entre 20°C e 27°C (Soderstrom & Calderón, 1974). Seus indivíduos ocorrem sob a sombra de árvores, mesmo em vegetações mais secas, como nas matas de restinga da costa do nordeste brasileiro (Judziewicz et al., 1999). Além disto, através da análise de reconstrução de área ancestral e dos dados de distribuição geográfica, foi possível identificar que as espécies de *Piresia* possivelmente surgiram e se estabeleceram em regiões de matas úmidas (na Amazônia e no sul da Bahia), assim como possivelmente ocorreu para a maioria dos bambus herbáceos (Clark, 1990; Judziewicz et al., 1999) (Fig 2 e 4). Posteriormente, algumas delas provavelmente conseguiram se estabelecer em regiões de matas mais secas (como as restingas e na porção amazônica em Manaus e Amapá) (Fig. 4 – A, B e C). Em um trabalho recente, Esquivel-Muelbert et al. (2017) identificaram que os padrões biogeográficos de espécies arbóreas dos neotrópicos são influenciados diretamente pela tolerância das mesmas à seca. Deste modo, a distribuição de espécies arbóreas em resposta aos padrões de umidade pode ter se refletido diretamente na distribuição de *Piresia* ao longo do seu curso evolutivo, pois a presença de indivíduos do gênero está diretamente relacionada ao fornecimento de sombra proporcionado pelas árvores (Judziewicz et al., 1999). Esses resultados possuem correlação com o trabalho de Carvalho et al. (in prep.) que sugere uma forte relação entre a distribuição geográfica das espécies e seu nicho climático, que parecem estar expressos principalmente em caracteres de morfologia foliar. Os mesmos, segundo esses autores podem ser o resultado de uma adaptação para a captação de luz e balanço à perda de água durante mudanças climáticas que moldaram a evolução do grupo. Algo semelhante foi atualmente descrito por Wright et al. (2017), que observaram a existência da relação entre o tamanho das folhas e as variações de temperatura

e pluviosidade em 7670 espécies ao redor do mundo, remontando à capacidade adaptativa das plantas ao clima. Todos esses dados ainda, corroboram o conhecimento de alguns autores que remontam a existência das espécies de *Piresia* em condições climáticas específicas (Soderstrom & Calderón, 1974; Judziewicz et al., 1999), o que leva à conclusão de que essas condições seriam as principais forças que vêm moldando a história evolutiva desse grupo.

6. Conclusões

A partir dos dados obtidos nesse trabalho foi possível concluir que a história de *Piresia* é mais complexa do que se supunha, marcada por conexões e isolamentos entre a Mata Atlântica e a Amazônia ao longo do curso evolutivo do gênero. Sua origem remonta à um período de aumento da diversidade nas matas que recobriam a América do Sul e a diversificação de suas linhagens parece ter sido uma consequência das diversas mudanças climáticas e estruturais que ocorreram no Pleistoceno. Entre diversos fatores, as dinâmicas da vegetação, bem como a umidade parecem ter tido um papel fundamental para a origem das espécies, sendo então determinante a existência de nichos específicos para cada espécie do gênero, que se refletem na distribuição disjunta do grupo atualmente.

Finalmente, pôde-se observar que as espécies/morfotipos presentes na Mata Atlântica apresentaram relações filogenéticas bem sustentadas, que reforçam as evidências de espécies ainda não descritas para o gênero. Contrariamente, as espécies da Amazônia possuem relações filogenéticas mais complexas do que se supunha, provavelmente devido à sua história marcada por diversificação recente e prováveis eventos de hibridação.

7. Referências

- AB'SABER, A.N. Os domínios morfoclimáticos da América do Sul. Primeira aproximação. **Geomorfologia**, v. 53, p. 1–23, 1977.
- AKAIKE, H. A new look at the statistical model identification. *IEEE transactions on automatic control*, v. 19, n. 6, p. 716-723, 1974.
- ANDERSON, D.R.; BURNHAM, K.P.; WHITE, G.C. Comparison of Akaike information criterion and consistent Akaike information criterion for model selection and statistical inference from capture-recapture studies. **Journal of Applied Statistics**, v. 25, n. 2, p. 263-282, 1998.

- ANTONELLI, A.; SANMARTÍN, I. Why are there so many plant species in the Neotropics? **Taxon**, v. 60, n. 2, p. 403-414, 2011.
- AULER, A.S., WANG, X., EDWARDS, R.L., CHENG, H., CRISTALLI, P.S., SMART, P.L.; RICHARDS, D.A. Quaternary ecological and geomorphic changes associated with rainfall events in presently semi-arid northeastern Brazil. **Journal of Quaternary Science**, v. 19, n. 7, p. 693-70, 2004.
- BAMBOO PHYLOGENY GROUP. An updated tribal and subtribal classification of the bamboos (Poaceae: Bambusoideae). **The Journal of the American Bamboo Society**, v. 24, n. 1, p. 1-10, 2012.
- BALDINI, R. M.; ORTIZ, O. O. Panama as a crucial center of differentiation for the herbaceous bamboos (Poaceae: Bambusoideae: Olyreae): a study in progress. **Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology**, v. 148, n. 3, p. 558-564, 2014.
- BROWN J.H., LOMOLINO M.V. **Biogeografia**. 2ª ed. Trad: Iulo Feliciano Afonso. Ribeirão Preto: FUNPEC Editora. 2006.
- CALDERÓN, C. E.; SODERSTROM, T. R. **The genera of Bambusoideae (Poacea) of the American continent: Keys and comments**. 1980.
- CARVALHO, M.L.S. **Estudos biossistemáticos em *Piresia Swallen* (Poaceae: Bambusoideae: Olyreae)**. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia. 2013.
- CARVALHO, M.L.S.; DOREA, M.C.; PIMENTA, K.M.; OLIVEIRA, R.P. *Piresia palmula*: a new species of herbaceous bamboo (Poaceae, Olyreae) endemic to the Atlantic Rainforest, Southern Bahia, Brazil. **Systematic Botany**. v. 37, p. 134-138, 2012.
- CLAPPERTON, C. M. Quaternary glaciations in the Southern Hemisphere: an overview. **Quaternary Science Reviews**, v. 9, n. 2-3, p. 299-304, 1990.
- CLARK, L.G. Diversity and biogeography of Neotropical bamboos (Poaceae: Bambusoideae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 4, n. 1, p. 125-132, 1990.
- CLARK, L.G., ZHANG, W.; WENDEL, J.F. A phylogeny of the grass family (Poaceae) based on *ndhF* sequence data. **Systematic Botany**, p. 436-460, 1995.
- COX, C. B.; MOORE, P. D.; LADLE, R. **Biogeography: an ecological and evolutionary approach**. John Wiley & Sons. 2016.
- DRUMMOND, A.J., SUCHARD, M.A., XIE, D.; RAMBAUT, A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7 **Molecular Biology and Evolution**, v. 29, p. 1969-1973, 2012.
- EDGAR, R.C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Research**, v. 32, p. 1792-1797, 2004.
- ESQUIVEL-MUELBERT, A., et al. Biogeographic distributions of neotropical trees reflect their directly measured drought tolerances. **Scientific Reports**, v. 7, 2017.

- FITTKAU, E.J. The fauna of South America. **Biogeography and ecology in South America**, v. 2, p. 624-650, 1969.
- FLOWER, B.P.; KENNETT, J.P. The middle Miocene climatic transition: East Antarctic ice sheet development, deep ocean circulation and global carbon cycling. **Palaeogeography, palaeoclimatology, palaeoecology**, v. 108, n. 3-4, p. 537-555, 1994.
- FRITZ, S.C.; BAKER, P.A.; SELTZER, G.O.; BALLANTYNE, A.; TAPIA, P.; CHENG, H.; EDWARDS, R.L. Quaternary glaciation and hydrologic variation in the South American tropics as reconstructed from the Lake Titicaca drilling project. **Quaternary Research**, v. 68, p. 410-420, 2007.
- GERNHARD, T. The conditioned reconstructed process. **Journal of Theoretical Biology**, v. 253, n. 4, p. 769-778, 2008.
- HAFER, J. Speciation in Amazonian forest birds. **Science**, v. 165, n. 3889, p. 131-137, 1969.
- HÖNISCH, B.; HEMMING, N.G.; ARCHER, D.; SIDDALL, M.; McMANUS, J.F. Atmospheric carbon dioxide concentration across the mid-Pleistocene transition. **Science**, v. 324, n. 5934, p. 1551-1554, 2009.
- HOORN, C.; GUERRERO, J.; SARMIENTO, G.A.; LORENTE, M.A. Andean tectonics as a cause for changing drainage patterns in Miocene northern South America. **Geology**, v. 23, n. 3, p. 237-240, 1995.
- HOORN, C., et al. Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. **Science**, v. 330, n. 6006, p. 927-931, 2010.
- HUBBELL, S.P.; HE, F.; CONDIT R.; BORDA-DE-ÁGUA, L.; KELLNER, J.; ter STEEGE, H. How many tree species are there in the Amazon and how many of them will go extinct? **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 105, p. 11498–11504, 2008.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Clima do Brasil 1:500.000. Disponível em: http://dados.gov.br/dataset/cren_climadobrasil_5000. Acesso em: agosto de 2017.
- JESUS, I.S.D. **Estudos filogeográficos em *Piresia leptophylla* Soderstr. (Poaceae, Bambusoideae)**. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal da Bahia, Bahia. 2017.
- JUDZIEWICZ, E.J.; CLARK, L.G. Classification and biogeography of new world grasses: Anomochlooideae, Pharoideae, Ehrhartoideae, and Bambusoideae. **Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany**, v. 23, n. 1, p. 303-314, 2007.
- JUDZIEWICZ, E.J., CLARK, L.G., LONDOÑO, X., STERN, M.J. **American bamboos**. Smithsonian Institution Press, Washington, DC. 1999.
- KAREHED, J.; GROENINCKX, I.; DESSEIN, S.; MOTLEY, T.J.; BREMER, B. The phylogenetic utility of chloroplast and nuclear DNA markers and the phylogeny of the Rubiaceae tribe Spermaceae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 49, n. 3, p. 843-866, 2008.

- KELCHNER, S.A, Bamboo Phylogeny Group (BPG). Higher-level phylogenetic relationships within the bamboos (Poaceae: Bambusoideae) based on five plastid markers. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 67, p. 404-413, 2013.
- KUMAR, S.; STECHER, G.; TAMURA, K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 7.0 for bigger datasets. **Molecular biology and evolution**, p. msw054, 2016.
- LAVINA, E.L.; FAUTH, G. Evolução geológica da América do Sul nos últimos 250 milhões de anos. In: **Biogeografia da América do Sul: padrões e processos**. Roca, São Paulo. 2010.
- LEITE, Y.L., et al. Neotropical forest expansion during the last glacial period challenges refuge hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 113, p. 1008-1013, 2016.
- LOMOLINO, M.V., RIDDLE, B.R., BROWN, J.H. **Biogeography**. Funpec, 2006.
- MATZKE, N. J. Probabilistic historical biogeography: new models for founder-event speciation, imperfect detection, and fossils allow improved accuracy and model-testing. **Frontiers of Biogeography**, v. 5, p. 242–248, 2013.
- MAURI, J.; FERNANDES, K.D.; DE CARVALHO, M.L.S.; NAKAMURA, A.T. Redução nos verticilos florais de *Piresia* (Poaceae, Bambusoideae) revelados pela anatomia. **Anais do 64° Congresso Nacional de Botânica**, Belo Horizonte, 11-15 de novembro de 2013. Disponível em: <http://www.botanica.org.br/trabalhos-cientificos/64CNBot/resumo-ins19723-id5098.pdf>.
- MORLEY, R.J. Origin and evolution of tropical rain forests. John Wiley & Sons. 2000.
- MORRONE, J.J. Biogeographic areas and transition zones of Latin America and the Caribbean islands based on panbiogeographic and cladistic analyses of the entomofauna. **Annual Review of Entomology**, v. 51, p. 467-494, 2006.
- MÜLLER, K. SeqState. **Applied bioinformatics**, v. 4, p. 65-69, 2005.
- MÜLLER, K. Incorporating information from length-mutational events into phylogenetic analysis. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 38, p. 667-676, 2006.
- MILLER, M.A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: **Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)**, November 2010, New Orleans, p.1-8, 2010.
- OHRNBERGER, D. **The bamboos of the world: annotated nomenclature and literature of the species and the higher and lower taxa**. Elsevier, 1999.
- OLIVEIRA, R.P. **A tribo Olyreae (Poaceae: Bambusoideae) no estado da Bahia, Brasil. Dissertação de Mestrado**, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia. 2001.
- OLIVEIRA, R.P.; CLARK, L.G.; SCHNADELBACH, A.S.; MONTEIRO, S.H.; BORBA, E.L.; LONGHI-WAGNER, H.M.; VAN DEN BERG, C. A molecular phylogeny of *Raddia* and its allies within the tribe

- Olyreae (Poaceae, Bambusoideae) based on noncoding plastid and nuclear spacers. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 78, p. 105-117, 2014.
- ORTIZ-JAUREGUIZAR, E.; CLADERA, G.A. Paleoenvironmental evolution of southern South America during the Cenozoic. **Journal of Arid Environments**, v. 66, n. 3, p. 498-532, 2006.
- PAITHANKAR K.R.; PRASAD, K.S.N. Precipitation of DNA by polyethylene glycol and ethanol. **Nucleic Acids Research**, v. 19, n. 6, p. 1346, 1991
- PISIAS, N.G.; MOORE, T.C. The evolution of Pleistocene climate: a time series approach. **Earth and Planetary Science Letters**, v. 52, n. 2, p. 450-458, 1981.
- POSADA, D. jModelTest: phylogenetic model averaging. **Molecular Biology and Evolution**, v. 25, n. 7, p. 1253-1256, 2008.
- POUND, M.J.; HAYWOOD, A.M.; SALZMANN, U.; RIDING, J.B. Global vegetation dynamics and latitudinal temperature gradients during the Mid to Late Miocene (15.97–5.33 Ma). **Earth-Science Reviews**, v. 112, n. 1, p. 1-22, 2012.
- PRINCE, L.M. Plastid Primers for Angiosperm Phylogenetics and Phylogeography. **Applications in Plant Sciences**, v. 3, n. 6. 2015.
- RAMBAUT, A.; DRUMMOND, A.J. Tracer: MCMC trace analysis tool, version 1.5. **University of Oxford: Oxford**. 2009.
- R CORE TEAM. **R: A Language and Environment for Statistical Computing**. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing; www.R-project.org. 2016.
- ROGERS, S.O.; BENDICH, A.J. Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues. **Plant Molecular Biology**, v. 5, n. 2, p. 69-76, 1985.
- RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J.P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, n. 12, p. 1572-1574, 2003.
- SILVA, J.M.C.; CASTELETI, C.H.M. Estado da biodiversidade da Mata Atlântica brasileira. In: Galindo-Leal C, Câmara IG (Eds). **Mata Atlântica: Biodiversidade, Ameaças e Perspectivas**. Belo Horizonte: Conservação Internacional, p. 43–59. 2005.
- SMALL, R. L. et al. Use of Nuclear Genes for Phylogenetic Reconstruction in Plants. **Australian Systematic Botany**, v. 17, p. 145-170, 2004.
- SOBRAL-SOUZA, T.; LIMA-RIBEIRO M.S.; SOLFERINI, V.N. Biogeography of Neotropical Rainforests: past connections between Amazon and Atlantic Forest detected by ecological niche modeling. **Evolutionary Ecology**, v. 29, n. 5, p. 643-655, 2015.
- SODERSTROM, T. New species of *Cryptochloa* and *Piresia* (Poaceae: Bambusoideae). **Brittonia**, v.34, n.1, 199-209, 1982.

- SODERSTROM, T.R.; CALDERÓN, C. E. Primitive forest grasses and evolution of the Bambusoideae. **Biotropica**, p. 141-153, 1974.
- SUGUIO, K.; BARRETO, A.M.F.; OLIVEIRA, P.E.D.; BEZERRA, F.H.R.; VILELA, M.C.S.H. Indicators of Holocene sea level changes along the coast of the states of Pernambuco and Paraíba, Brazil. **Geologia USP–Série Científica**, v. 13, p. 141-152, 2013.
- SUNGKAEW, S. et al. Non-monophyly of the woody bamboos (Bambuseae; Poaceae): a multi-gene region phylogenetic analysis of Bambusoideae ss. **Journal of Plant Research**, v. 122, n. 1, p. 95, 2009.
- SWALLEN, J.R. Two New Genera of Olyreae from South America. **Phytologia**, v. 11, p. 152-153. 1964.
- VAN DER HAMMEN, T. The Pleistocene changes of vegetation and climate in tropical South America. **Journal of Biogeography**, v. 1, n. 1, p. 3-26, 1974.
- VANZOLINI, P.E.; WILLIAMS, E.E. South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria, Iguanidae). **Arquivos de Zoologia**, v. 19, n. 1-2, p. 1-176, 1970.
- WOLFE, K.H.; L.I, W.H.; SHARP, P.M. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 84, n. 24, p. 9054-9058, 1987.
- WRIGHT, I.J. et al. Global climatic drivers of leaf size. **Science**, v. 357, n. 6354, p. 917-921, 2017.
- YANG, J.B., YANG, H.Q., LI, D.Z., WONG, K.M.; YANG, Y.M. Phylogeny of *Bambusa* and its allies (Poaceae: Bambusoideae) inferred from nuclear GBSSI gene and plastid psbA-trnH, rpl32-trnL and rps16 intron DNA sequences. **Taxon**, v. 59, n. 4, p. 1102-1110, 2010.

8. Anexos

Tabela 1 – Espécies, morfotipos*, localização, coordenadas e voucher das amostras de *Piresia* e grupo externo utilizados no presente estudo.

Espécie	Localização	Coordenadas	Voucher
<i>Ingroup</i>			
<i>Piresia</i> Morfo A	Igrapiúna - BA	13 49'33"S 39 08'51"W	Carvalho 308
<i>Piresia</i> Morfo A	Igrapiúna - BA	13 49'S 39 7'W	Pimenta 61
<i>Piresia</i> Morfo B	Igrapiúna - BA	13°49'S 39°7'W	Pimenta 52
<i>Piresia</i> Morfo B	Igrapiúna - BA	13 49'33"S 39 08'51"W	Pimenta 59
<i>Piresia</i> Morfo E	Aurelino Leal - BA	14 18'S 39 19'W	Carvalho 281
<i>Piresia</i> Morfo F	Serra Grande - BA	13 18'41"S 39 26'58"W	Carvalho 279
<i>Piresia</i> Morfo F	Igarassú - PE	07 50'03"S 34 54'23"W	Carvalho 309
<i>P. goeldii</i> Swallen	Belém - PA	1 25'19,8"S 48 09'52"W	Carvalho 307
<i>P. goeldii</i> Swallen	Manaus - AM	02 06'56"S 59 59'29,8"W	Carvalho 289
<i>P. goeldii</i> Swallen	Santa Isabel - PA	01 22'08"S 48 09'52"W	Carvalho 306
<i>P. leptophylla</i> Soderstr.	Canavieiras - BA	15 33'12,5"S 38 58'01"W	Carvalho 278
<i>P. leptophylla</i> Soderstr.	Ipojuca - PE	08 27'10"S 34 59'19,7"W	Carvalho 310
<i>P. leptophylla</i> Soderstr.	Salvador - BA	12 58'16"S 38 30'39"W	Carvalho 282
<i>P. leptophylla</i> Soderstr.	Una - BA	15 17'34"S 39 04'30"W	Carvalho 317
<i>P. palmula</i> M.L.S.Carvalho & R.P.Oliveira	Igrapiúna - BA	13°49'00"S 39°08'00"W	Oliveira 1511
<i>Piresia</i> sp.1	Ilhéus - BA	14.79 S 39.04 W	Carvalho 426
<i>P. sympodica</i> (Döll) Swallen	Belém - PA	1 27'21"S 48 30'14"W	Carvalho 302
<i>P. sympodica</i> (Döll) Swallen	Porto Grande - AP	00 42'46"N 51 24'46"W	Oliveira 1893
<i>Outgroup</i>			
<i>Cryptochloa strictiflora</i> E. Fourn.	Toledo - Belize	-	Davidse 35629

*Morfotipos definidos de acordo com Carvalho (2013) e Carvalho et al. (in prep.).

Tabela 2 – Regiões de DNA plastidial utilizadas, sequencias dos *primers*, condições de amplificação, número de ciclos utilizados e referências.

Regiões	Sequências dos <i>primers</i> (5' - 3')	Condições de amplificação	Nº de ciclos	Referências
<i>ndhF</i>	1F: ATG GAA CA (GT) ACA TAT (CG) AAT ATG C 972R: CAT CAT ATA ACC AAT TGA GAC 536F: TTG TAA CTA ATC GTG TAG GGG A 1660R: ATC CAA TGA ACA AAG TAA AAA G	Pre-melting: 94°C (1 min) Denaturation: 94°C (40 seg) Annealing: 48°C (45 seg) Extension: 72°C (1:30) Final extension: 72°C (5 min)	35	Olmstead & Sweere (1994)
<i>rpl16</i>	F: GCT ATG CTT AGT GTG TGT GTC TC R: CCA KAT TTT TCC ACC ACG AC	Pre-melting: 94°C (1 min) Denaturation: 94°C (45 seg) Annealing: 55°C (40 seg) Extension: 72°C (2 min) Final extension: 72°C (5 min)	35	Giussani et al. (2009)
<i>rpl32-trnL</i>	F: CAG TTC CCA AAA AAACGT ACT TC R: CTG CTT CCT AAG AGC AGC GT	Pre-melting: 80°C (5 min) Denaturation: 95°C (1 min) Annealing: 50°C (1 min) Extension: 65°C (4 min) Final extension: 65°C (5min)	30	Shaw (2007)
<i>trnD-psbM</i>	F: CAA TTG GTC AGA AGC ACC G R: GGC AGT AGG AAC TAG AAT GAA C	Pre-melting: 94°C (3 min) Denaturation: 94°C (40 seg) Annealing: 54°C (40 seg) Extension: 72°C (1 min) Final extension: 72°C (5 min)	25	Tsuruta et al. (2008)
<i>trnD-trnT</i>	F: CCC TTT TAA CTC AGT GGT A R: ACC AAT TGA ACT ACA ATC CC	Pre-melting: 94°C (1min) Denaturation: 94°C (45 seg) Annealing: 54°C (40 seg) Extension: 72°C (1:10) Final extension: 72°C (5 min)	35	Fisher et al. (2009)
<i>trnL-trnF</i>	F: CGA ATT CGG TAG ACG CTA CG R: ATT TGA ACT GGT GAC ACG AG	Pre-melting: 95°C (1 min) Denaturation: 95°C (1 min) Annealing: 55/56°C (30 seg) Extension: 72°C (1 min) Final extension: 72°C (5 min)	30	Holt et al. (2004)

Tabela 3 – Sumário de informações para cada região de DNA plastidial utilizada, comprimentos em pares de base (bp) da matriz analisada, total de substituições nucleotídicas, *indels*, total de sítios informativos, e percentual (%) de dados informativos.

Região	Comprimento (pb)	Substituições		Sítios informativos	% de dados informativos
		nucleotídicas	<i>Indels</i>		
<i>ndhF</i> (parcial)	1.380	200	9	209	51,6
<i>rpl16</i>	814	46	0	46	11,4
<i>rpl32-trnL</i>	610	38	11	49	12,1
<i>trnD-psbM</i>	834	34	0	34	8,4
<i>trnD-trnT</i>	866	41	0	41	10,1
<i>trnL-trnF</i>	637	26	0	26	6,4
Total	5.141	385	20	405	

Figura 1 - Caracterização de *Piresia* Swallen. A – Distribuição geográfica disjunta do gênero *Piresia* (adaptado de Carvalho, 2013); B – Inflorescência em colmo ereto folhoso; C – Inflorescência em colmo decumbente; D – *P. sympodica* (Döll) Swallen; E – *P. goeldii* Swallen; F – *P. leptophylla* Soderstr.; G – *P. palmula* M.L.S.Carvalho & R.P.Oliveira; H – Exemplar de possível nova espécie (Morfo B). Fotos: Carvalho, M.L.S.



Figura 2 - Esquematisação dos resultados obtidos nas análises feitas no BioGeoBEARS, demonstrando as topologias obtidas para os modelos DEC + j, DIVALIKE + j e BAYAREALIKE + j, e o mapa ilustrando as regiões biogeográficas utilizadas A (“Várzea”, região alagadiça amazonense), B (“Amapá”) e C (“Pará”) como regiões específicas desses estados (Morrone, 2006) e D (“Cariri”, como o extremo norte do nordeste brasileiro) e E (“Tupi”, sul da Bahia até Santa Catarina) (Fittkau, 1969).

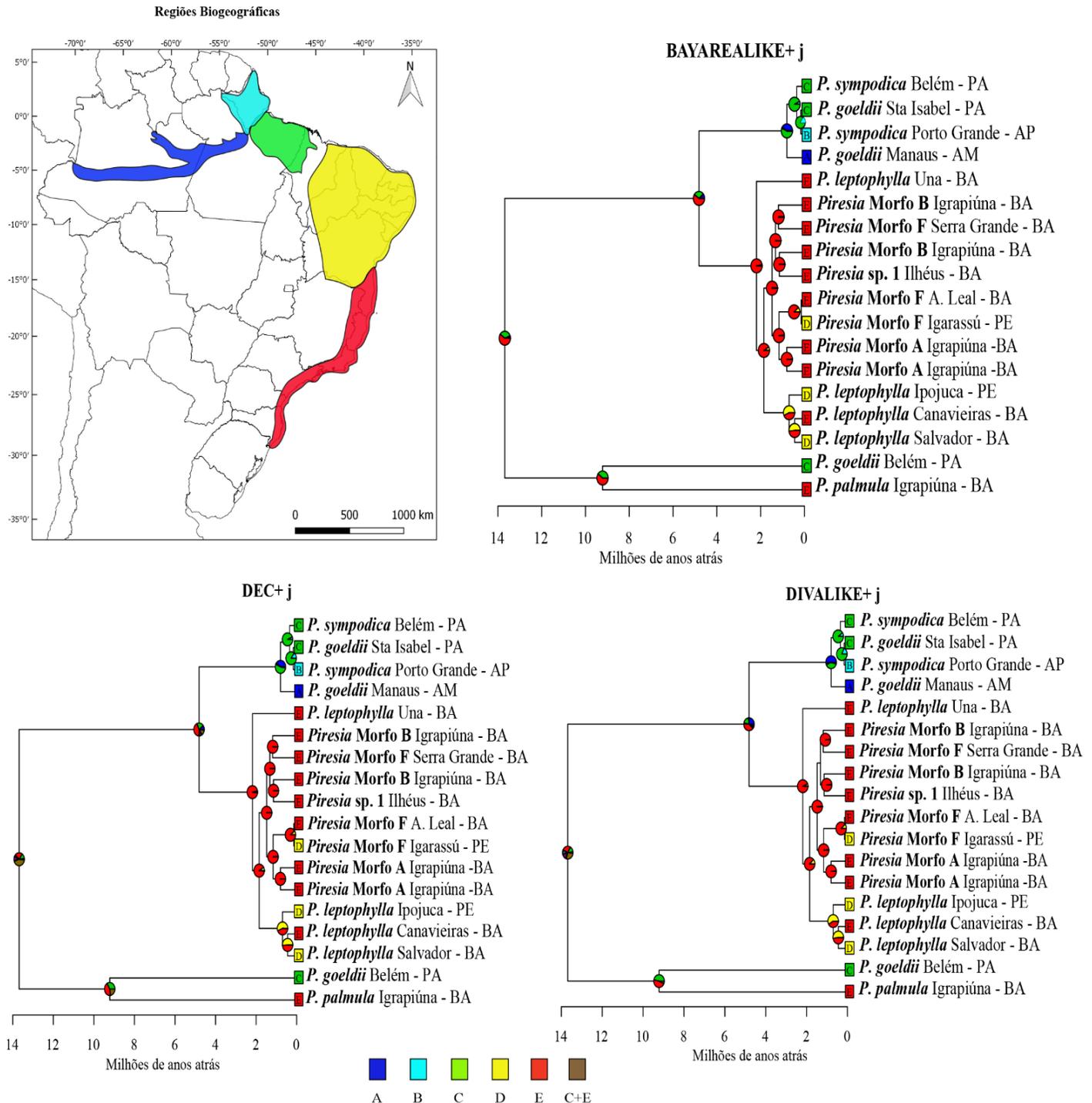


Figura 3 – Cronograma de diversificação de *Piresia* obtido por IB a partir das regiões plastidiais *rpl16*, *rpl32-trnL*, *trnD-psbM*, *trnD-trnT*, *trnL-trnF* e *ndhF* (parcial), e taxa de calibração de 1.1 a 1.6 % de substituições nucleotídicas/ milhão de anos. As idades médias de divergência e os valores de suporte dos nós (probabilidade posterior - PP) encontram-se acima e abaixo de cada barra de intervalo de confiança, respectivamente. Os mapas ilustram a dinâmica vegetacional durante os eventos de cladogênese.

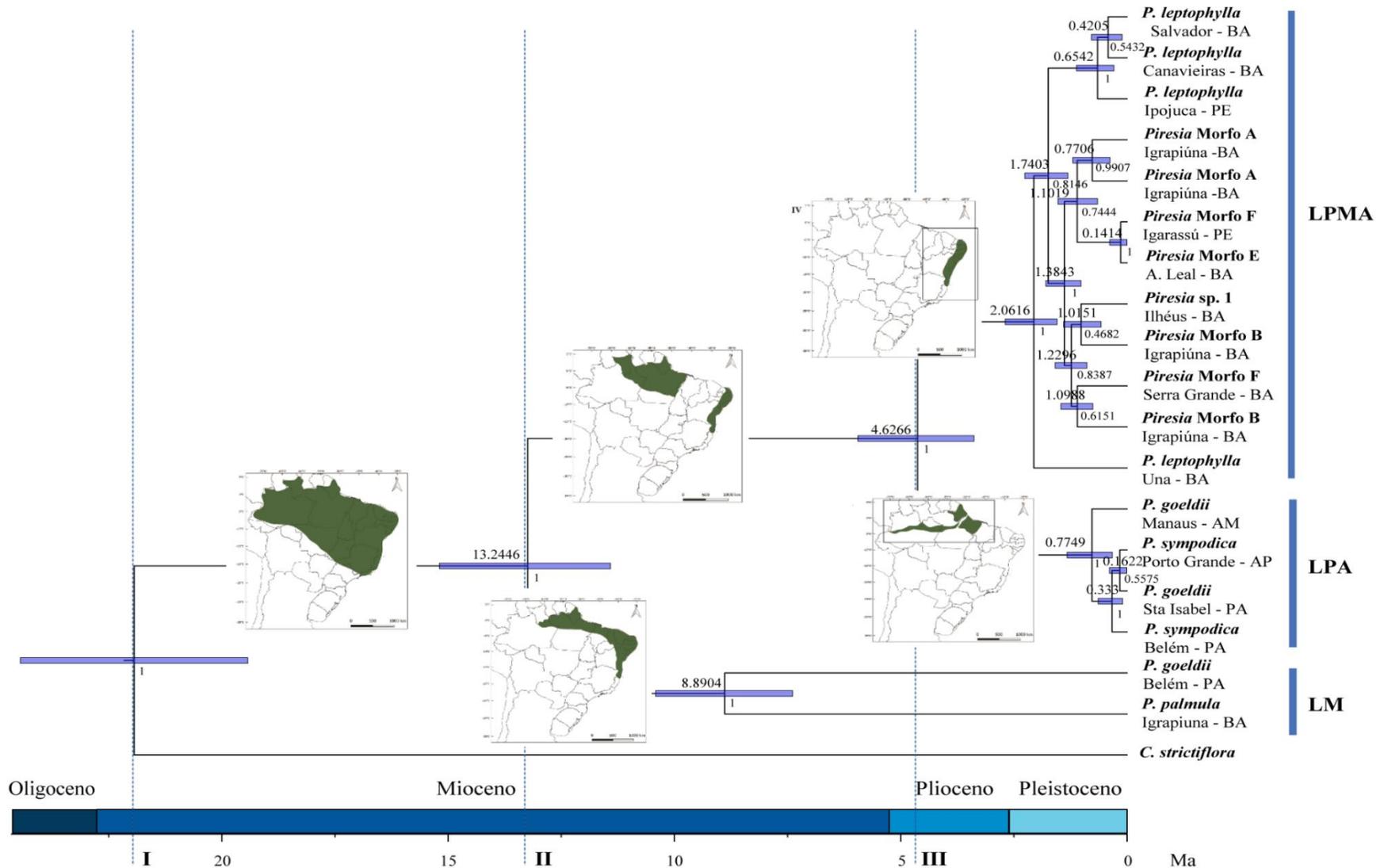


Figura 4 - Mapa da distribuição geográfica das amostras de *Piresia* utilizadas, sobre *layers* de umidade para o Brasil. Software: QGIS 2.18.2. Mapa: Campos, I.P.A. Fonte de dados: IBGE (2017).

