



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

MARCELA FIRENS DA SILVEIRA

**ESTUDOS TAXONÔMICOS E FILOGENÉTICOS DE *MANETTIA* MUTIS EX L.
(RUBIOIDEAE, RUBIACEAE)**

***TAXONOMIC AND PHYLOGENETIC STUDIES OF MANETTIA MUTIS EX L.
(RUBIOIDEAE, RUBIACEAE)***

**CAMPINAS
2015**

MARCELA FIRENS DA SILVEIRA

**“ESTUDOS TAXONÔMICOS E FILOGENÉTICOS DE *MANETTIA*
MUTIS EX L. (RUBIOIDEAE, RUBIACEAE)”**

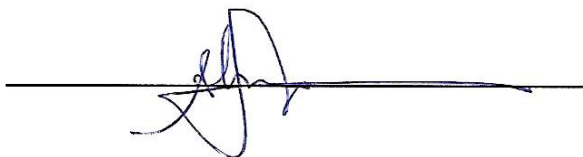
***“TAXONOMIC AND PHYLOGENETICS STUDIES OF *MANETTIA*
MUTIS EX L. (RUBIOIDEAE, RUBIACEAE)”***

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da
Universidade Estadual de Campinas como parte
dos requisitos exigidos para a obtenção do título de
Doutora em Biologia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Luiza Sumiko Kinoshita

Coorientador: Prof. Dr. André Olmos Simões

ESTE EXEMPLAR CORRESPONDE À VERSÃO
FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA
MARCELA FIRENS DA SILVEIRA E ORIENTADA
PELA PROFA. DRA. LUIZA SUMIKO KINOSHITA.

A handwritten signature in blue ink, consisting of a stylized 'M' and 'F' followed by a horizontal line, is positioned above a solid horizontal line.

Campinas, 2015

Agência de fomento: Capes
Nº processo: 0

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Biologia
Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

Si39e Silveira, Marcela Firens da, 1983-
Estudos taxonômicos e filogenéticos de *Manettia* Mutis ex L. (Rubioidae, Rubiaceae) / Marcela Firens da Silveira. – Campinas, SP : [s.n.], 2015.

Orientador: Luiza Sumiko Kinoshita.
Coorientador: André Olmos Simões.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. Filogenia. 2. Rubiaceae. 3. Taxonomia vegetal. 4. Marcadores moleculares. I. Kinoshita, Luiza Sumiko, 1947-. II. Simões, André Olmos, 1975-. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Taxonomic and phylogenetics studies of *Manettia* Mutis ex L. (Rubioidae, Rubiaceae)

Palavras-chave em inglês:

Phylogeny

Rubiaceae

Plant taxonomists

Molecular markers

Área de concentração: Biologia Vegetal

Titulação: Doutora em Biologia Vegetal

Banca examinadora:

Luiza Sumiko Kinoshita [Orientador]

Maria Fernanda Aguiar Calió

Jomar Gomes Jardim

Roberto Manuel Salas

Ingrid Koch

Data de defesa: 31-07-2015

Programa de Pós-Graduação: Biologia Vegetal

Campinas, 31 de julho de 2015.

Profa. Dra. Luiza Sumiko Kinoshita
(orientadora)

Profa. Dra. Ingrid Koch

Profa. Dra. Maria Fernanda Calió

Dr. Roberto Manuel Salas

Prof. Dr. Jomar Gomes Jardim

Dr. Rosemeri Morokawa

Dr. Carla Poleselli Bruniera

Prof. Dr. João Semir

A Ata de Defesa, assinada pelos membros da banca, da Comissão Examinadora, consta no processo de vida acadêmica do aluno.

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos avós, Nilce e Oreste Firens.

AGRADECIMENTO

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da UNICAMP. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela bolsa de doutorado e pela bolsa sanduíche. À FAPESP pelo auxílio pesquisa concedido. Ao Projeto Re flora CNPq/FAPESP pelo auxílio que permitiu a consulta de material nos herbários europeus, em especial Kew (Inglaterra) e Paris (França).

À Profa. Dra. Luiza Sumiko Kinoshita pela orientação e ensinamentos.

Ao Prof. André pela co-orientação e ensinamentos.

À Universidade de Gotemburgo, Suécia, pelo suporte durante o período sanduíche e ao supervisor Dr. Alexandre Antonelli, pela oportunidade e ensinamentos.

Ao laboratório de Taxonomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da UNICAMP e laboratório da Universidade de Gotemburgo, Suécia, pelas facilidades concedidas na realização deste trabalho.

À Profa. Dra. Leila Macias por ter disponibilizado toda literatura e conhecimentos em *Manettia*.

A todos os herbários e curadores que colaboraram com este trabalho.

Aos companheiros de campo durante as coletas.

Aos professores que contribuíram para minha formação: João Semir, Jorge Tamashiro, Maria do Carmo Amaral, Sandra Carmelo Guerreiro e Claes Persson.

Aos meus colegas e amigos de bancada.

Aos membros da pré-banca (João Semir, Maria Fernanda Calió e Roberto Salas) e banca (Maria Fernanda Calió, Roberto Salas, Ingrid Koch e Jomar Gomes Jardim).

Aos meus amigos, de antes e de agora e de sempre, pelo apoio e carinho. Aos meus familiares que sempre apoiaram meus estudos.

RESUMO

Manettia é um gênero neotropical que compreende espécies de plantas herbáceas ou arbustivas, geralmente trepadoras, distribuído desde o México, América Central, Antilhas até América do Sul, onde chega até o Uruguai. As relações filogenéticas das espécies de *Manettia* e algumas espécies de *Arcytophyllum* e *Bouvardia* foram inferidas a partir da variação de sequências de nucleotídeos de três marcadores plastidiais (*rps16*, *rbcL* e *trnL-trnI*) e um marcador nuclear (ITS). As análises filogenéticas dos dados combinados de DNA sugerem que *Manettia* é monofilético e que uma provável área ancestral do gênero é a região dos Andes. Uma sinopse de *Manettia* para o Brasil é apresentada com 25 espécies, onde é indicado o tipo do gênero, *Manettia reclinata*. Além disso, é descrita uma nova espécie da Mata Atlântica de São Paulo, Brasil.

Palavras-chave: Neotrópico, Sistemática Vegetal, marcadores moleculares

ABSTRACT

Manettia is a Neotropical genus of Rubiaceae comprising species of herbaceous or shrubby plants, usually vines, distributed from Mexico, Central America, the West Indies to South America, extending south to Uruguay. A phylogenetic tree comprising species of *Manettia*, *Arcytophyllum* and *Bouvardia* was inferred from the variation of nucleotide sequences of three plastid markers (*rps16*, *rbcL* and *trnL-trnF*) and a nuclear marker (ITS). Phylogenetic analysis of combined DNA data suggest that *Manettia* is monophyletic and that the ancestral range of the genus occurred in the Andean region. A synopsis of *Manettia* for Brazil is presented with 25 species, where the type species of the genus is designated, *Manettia reclinata*. In addition, a new species is described from the Atlantic Forest of São Paulo, Brazil.

Key words: Neotropics, Plant Systematic, molecular markers

SUMÁRIO

RESUMO	7
ABSTRACT	8
INTRODUÇÃO GERAL	15
CAPÍTULO 1	28
Filogenia de <i>Manettia</i> Mutis ex L. (Rubiaceae) baseada em inferência filogenética de dados moleculares e análise de evolução morfológica	28
RESUMO.....	28
INTRODUÇÃO	28
MATERIAL E MÉTODOS	30
RESULTADOS	33
DISCUSSÃO	36
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
CAPÍTULO 2	60
SINOPSE DO GÊNERO <i>MANETTIA</i> MUTIS EX L. (RUBIACEAE) PARA O BRASIL	60
Resumo	60
Introdução	60
Material e Métodos	61
Resultados	61
Discussão	78
Agradecimentos	78
Referências Bibliográficas	79
CAPÍTULO 3	89
<i>Manettia graziellae</i> : a new species of <i>Manettia</i> (Rubiaceae) from São Paulo State, Brazil	89
Summary	90
Introduction.....	90
Material and methods.....	90
Description.....	91
Acknowledgments	92
References.....	92

INTRODUÇÃO GERAL

Rubiaceae

Rubiaceae é uma família cosmopolita que compreende ca. 600 gêneros e 13.100 espécies (Govaerts *et al.*, 2015). Destes, aproximadamente 130 gêneros e 1500 espécies encontram-se no Brasil, correspondendo a um importante elemento em quase todas as formações naturais e, portanto, configurando-se como uma das principais famílias de nossa flora. É menos distribuída em regiões temperadas, sendo também encontrada nas regiões subpolares do Ártico e Antártica (Heywood *et al.*, 2007).

Rubiaceae está inserida na ordem Gentianales, em Asterídeas-núcleo-“Lamiídeas” (APG III, 2009) e compartilha algumas características com outras famílias dessa ordem, tais como: filotaxia oposta, prefloração convoluta e presença de coléteres. Três pequenas famílias previamente reconhecidas, Dialypetalanthaceae, Henriqueziaceae e Theligonaceae, têm sido confirmadas como membros de Rubiaceae (Fay *et al.*, 2000; Rogers, 1984). Estudos de sistemática filogenética, baseados principalmente em dados moleculares, tem revelado o reconhecimento de Rubiaceae como um grupo monofilético, bem corroborado por caracteres morfológicos (Bridson & Verdcourt, 2003; Robbrecht, 1988).

A família foi primeiramente subdividida nas subfamílias Cinchonoideae e Coffeoideae por Schumann (1891) baseado no número de óvulos por lóculo, caráter este rejeitado pelas classificações subsequentes. Verdcourt (1958) por sua vez, fez a divisão baseada na presença de ráfides, tecido de reserva nas sementes e apresentação do pólen, não aceitando Coffeoideae, mas preservando Cinchonoideae e estabelecendo duas novas subfamílias: Ixoroideae e Rubioideae. Além das subfamílias propostas por Verdcourt, Robbrecht (1988) incluiu um novo grupo, então denominado Antirheoideae, mas ainda utilizando como caracteres taxonômicos a reserva das sementes (endosperma escasso e oleoso e embrião grande).

Estudos filogenéticos com dados moleculares indicaram a divisão de Rubiaceae em três subfamílias: Rubioideae, Ixoroideae e Cinchonoideae (Bremer *et al.*, 1995; Bremer, 1996a; Bremer, 1996b; Bremer *et al.*, 1999; Bremer & Eriksson, 1992; Bremer & Jansen, 1991; Bremer & Manen, 2000). Entretanto, de acordo com o estudo apresentado por Robbrecht & Manen (2006) baseado em dados moleculares, a família ficou dividida somente em duas subfamílias: Cinchonoideae e Rubioideae, porém esta proposta não foi bem aceita pelos especialistas.

Outra classificação, mais aceita, foi proposta por Bremer & Eriksson (2009) para a família, a qual sugere que Rubiaceae é constituída de três subfamílias (Cinchonoideae, Ixoroideae e Rubioideae) e 44 tribos.

Subfamília Rubioideae

A subfamília Rubioideae é a maior subfamília de Rubiaceae, com cerca de 7.480 espécies, possuindo 11 dos 20 maiores gêneros da família, compreendendo aproximadamente 40% das Rubiaceae (Bremer & Eriksson, 2009). A maioria das tribos é distribuída nas regiões tropicais e subtropicais, mas algumas tribos de Spermacoceae alliance ocorrem nas regiões mediterrânea e temperada (Bremer & Eriksson, 2009). Rubioideae compreende uns dos mais diversos grupos dos Neotrópicos (representada por Palicoureeae e Spermacoceae), contudo é principalmente concentrado no velho mundo, onde provavelmente se originou (Antonelli *et al.*, 2009).

Rubioideae é um grupo monofilético que pode ser definido pela presença de ráfides, corola com estivação valvar, tricomas septados e flores frequentemente heterostílicas (Razafimandimbison *et al.*, 2008; Bremer & Eriksson, 2009).

As relações entre os grupos internos de Rubioideae não estão totalmente esclarecidas. Porém, Psychotrieae alliance e Spermacoceae alliance, dois dos principais clados, estão bem sustentados por dados moleculares (Bremer & Manen, 2000; Bremer & Eriksson, 2009). Apesar do consenso entre os especialistas sobre Spermacoceae *s.l.*, morfológicamente, é difícil de definir, porque nenhuma sinapomorfia morfológica apoia a tribo.

Tribo Spermacoceae

A tribo Spermacoceae *s.l.* inclui aproximadamente 16,5 % das espécies de Rubioideae. Tem distribuição pantropical com alguns taxa fora da região tropical.

As Spermacoceae *s. str.*, como tradicionalmente delimitadas (Hooker, 1873; Bremekamp, 1966; Verdcourt, 1958; Robbrecht, 1988, 1993), são caracterizadas pela presença de ráfides, estípulas fimbriadas, lóculos uniovulados, sementes com sulcos evidentes e pólen pluriaperturado. Contudo, filogenias baseadas em dados moleculares mostram que a tribo está inserida em Hedyotideae, indicando esta última como parafilética (Bremer, 1996b; Andersson & Rova, 1999; Bremer & Manen, 2000; Dessein *et al.*, 2005a). Bremer (1996b) e

mais tarde Bremer & Manen (2000) propuseram uma definição mais ampla para Spermacoceae contendo quatro tribos: Hedyotideae, Manettieae, Knoxieae e Triainolepideae.

Baseado em dados moleculares do marcador *rps16*, Andersson & Rova (1999) constataram que Hedyotideae é parafilético em relação à Spermacoceae *s. str.* Tais autores não aceitaram a delimitação ampla de Spermacoceae como proposto por Bremer (1996b), mas sugeriram uma emenda com a tribo Knoxieae, a qual incluiu alguns gêneros de Hedyotideae. Esta visão foi seguida por Dessein (2003) que reconheceu Knoxieae como grupo-irmão de Spermacoceae (incluindo Spermacoceae *s. str.*, Manettiae e a maioria dos membros de Hedyotideae).

Robbrecht & Manen (2006) chegaram a uma conclusão similar e reconheceram Knoxieae *s.l.* e Spermacoceae *s.l.* O monofiletismo da tribo foi confirmado por estudo molecular subsequente por Kårehed & Bremer (2007). Robbrecht & Manen (2006) listaram 33 gêneros de Spermacoceae *s.l.* e considerou que a tribo deveria ainda incluir gêneros adicionais.

Spermacoceae *s.l.* foi foco de estudo de Groeninckx *et al.* (2009), o primeiro estudo a demonstrar as relações filogenéticas dentro de Spermacoceae de uma perspectiva das tribos. Nesta circunscrição que é seguida no presente estudo, Spermacoceae *s.l.* compreende 61 gêneros e aproximadamente 1.235 espécies, unindo as antigas tribos Spermacoceae *s. str.*, *Manettieae* e o grupo *Hedyotis-Oldenlandia*. O primeiro grupo, bem marcado é Spermacoceae *s. str.*, o qual é caracterizado por lóculos uniovulados. De acordo com Dessein (2003), este grupo contém 19 gêneros dos quais *Spermacoce* L. é o maior com 275 espécies. O segundo grupo, *Hedyotis-Oldenlandia*, é caracterizado pelos lóculos multiovulados e compreende gêneros grandes como *Hedyotis* L. (ca. 250 spp.) e *Oldenlandia* L. (ca. 300 spp.) e gêneros menores próximos. O terceiro grupo bem definido é aquele que compreende os gêneros *Bouvardia* Salisb. e *Manettia* Mutis ex L.

***Manettia* Mutis ex L.**

Manettia é um gênero neotropical de plantas herbáceas ou arbustivas, geralmente trepadoras, com número estimado de espécies variando de 80 (Wernham, 1918) a 123 (Andersson, 1992). As espécies do gênero caracterizam-se por possuir frutos capsulares com muitas sementes discoides, circundadas de asas elípticas ou oblongas (Delprete *et al.*, 2004), e ocorrem desde o México, América Central, Antilhas até América do Sul, onde chega até o

Uruguai (Wernham, 1918) (Fig. 1). Os principais ambientes ocupados pelas espécies deste gênero são florestas úmidas da Mata Atlântica e da Amazônia, restinga e também em ambientes florestais associados ao Cerrado, à Caatinga.

O continente sul-americano é onde se encontra a grande maioria das espécies, ocorrendo em dois principais centros de diversidade: (1) O oeste da América do Sul – incluindo Colômbia, oeste da Venezuela, Equador, Peru e Bolívia e (2) Leste tropical da América do Sul – incluindo a costa leste do Brasil, do Ceará até o norte de São Paulo, e a parte tropical do Paraguai. Além dessas, há outros dois centros menores onde ocorrem as espécies: (3) Norte – incluindo o leste da Venezuela, Trinidad e Guiana e (4) Zona temperada da América do Sul – incluindo o sudeste do Paraguai, Sul do Brasil, Uruguai e norte da Argentina (Wernham, 1918).

Até o presente momento, quatro estudos taxonômicos foram feitos com *Manettia*: o primeiro, para o Brasil e umas poucas referências a algumas espécies da Venezuela, realizada por Schumann (1889) na “*Flora Brasiliensis*”; o segundo foi produzido por Wernham (1918, 1919), a última revisão completa realizada até hoje. Em 1967 e 1968, Chung, fez estudos preliminares para o gênero, chegando a tratar de duas seções (*Heterochlora* e *Pyrrhanthos*). Macias (1998) realizou tratamento apenas para as espécies do cone Sul da América do Sul, abrangendo Brasil, Paraguai, Argentina e Uruguai, onde constatou 33 espécies.

No período compreendido entre os trabalhos de Wernham (1918, 1919) e Chung (1967, 1968), muitas espécies de *Manettia* foram descritas principalmente por Standley (1925, 1927, 1929, 1930a, 1930b, 1931a, 1931b, 1931c, 1931d, 1932, 1936 e 1937) e por Steyermark (1972, 1974 e 1978). Tratamentos foram feitos para Flora Norte Americana, América Central e México (Standley, 1921), Flora da Guatemala (Standley & Williams, 1975) e Flora do Panamá (Dwyer, 1980). Entretanto, ressalta-se que a maioria destes trabalhos não incluíram as categorias infragenéricas, o que dificulta o posicionamento das espécies em relação às seções pertencentes. Desta maneira, *Manettia*, que contava com ca. 80 espécies (Wernham, 1918), teve sua circunscrição muito ampliada. Isto pode explicar a variação no número de espécies, aliado ao fato de não haver uma revisão completa do gênero como um todo após o tratamento realizado por Wernham (1918).

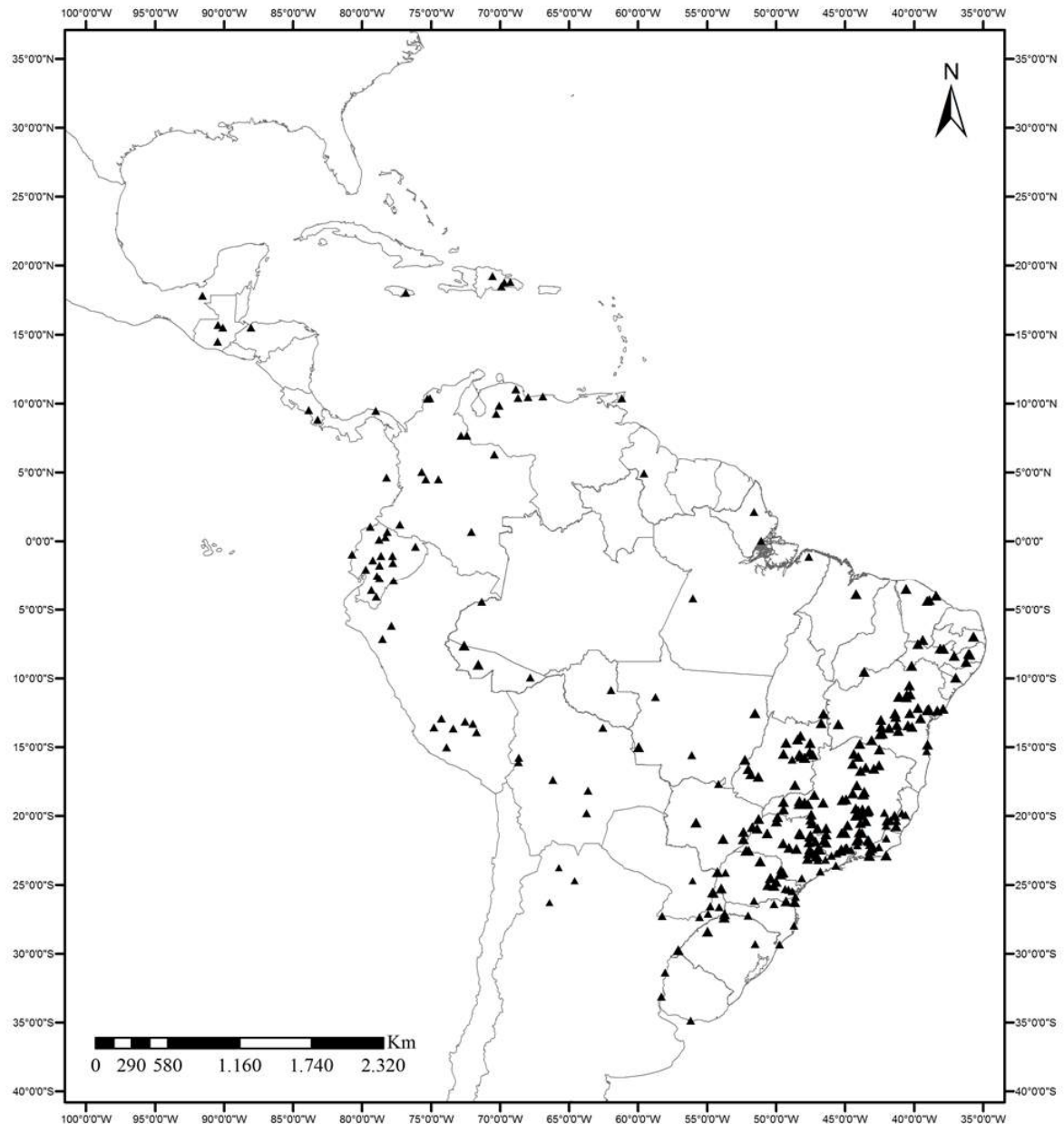


Figura 1. Distribuição de *Manettia* Mutis ex L., baseada nos registros de ocorrência.

O gênero *Manettia* foi inicialmente dividido em quatro seções por Wernham (1918), divisão esta baseada em caracteres morfológicos da flor e inflorescência: Sect. *Pyrrhanthos* K. Schumann, Sect. *Ysginanthus* Mutis ex L., Sect. *Heterochlora* K. Schumann e Sect. *Lygistum* DC. A seção *Irwinianthus* Steyermark foi criada por Steyermark (1978) para acomodar *Manettia irwinii*, a única com hábito ereto. As características utilizadas para definir cada seção estão resumidas na Tabela 1.

Tabela 1. Características morfológicas que definem as seções de *Manettia*, segundo Wernham (1918) e Steyermark (1978).

Caráter	Heterochlora	Irwinianthus	Lygistum	Pyrrhanthos	Ysginanthus
Hábito	Trepadeira	Ereto	Trepadeira	Trepadeira	Trepadeira
Inflorescências	Axilares	Terminais	Axilares	Axilares	Axilares
Forma da corola	Urceolada, cilindro-tubulosa a hipocrateriforme	Tubuloso-claviforme	Hipocrateriforme a infundibuliforme	Tubuloso-claviforme	Hipocrateriforme a tubuloso-hipocrateriforme
Cor da flor	Vermelha com ápice amarelo	Vermelha	Branca	Vermelha	Branca, rosa, roxa e vermelha
Anel de tricomas na face interna tubo da corola	Anel de tricomas acima da base	Anel de tricomas na porção proximal	Tricomas moniliformes na metade superior	Na base interna do tubo	Tricomas moliniformes metade superior até a fauce
Disco nectarífero	Abaulado e contínuo sobre o ovário	Abaulado e contínuo sobre o ovário	Plano e contínuo sobre o ovário	Abaulado e contínuo sobre o ovário	Contínuo aderido ao tubo do cálice

As seções aceitas por Wernham (1918) tiveram o número de espécies ampliado com a descoberta de novas espécies. Muitas delas, inclusive, não foram alocadas em seções por seus autores. As seções *Ysginanthus* e *Lygistum* possuem poucos caracteres que distinguem uma da outra, como se pode observar na Tabela 1.

Tradicionalmente, *Manettia* era posicionado na tribo Cinchoneae (De Candolle, 1830; Schumann, 1889; Steyermark, 1974 e Robbrecht, 1988) por possuir: ovário com numerosos óvulos por lóculo, fruto seco e semente alada. Porém, pelo fato de apresentar ráfides, *Manettia* foi retirado de Cinchoneae e colocado em Hedyotideae (Rubioidae) por Verdcourt (1958) e Bremekamp (1966).

Andersson & Persson (1991), usando análise cladística, sugeriram que a presença ou ausência de ráfides não seria uma característica relevante na separação das tribos. Reavaliaram os gêneros da tribo Cinchoneae e concluíram que *Manettia* deveria ficar na tribo Hedyotideae, subfamília Rubioideae, juntamente com *Bouvardia*, *Hedyotis* e *Hindsia*, baseado em caracteres como: placenta ligada centralmente por um estipe, semente com testa formando proeminências concêntricas na ala, lenho com fibras de traqueídes, vasos predominantemente solitários e frutos do tipo cápsula loculicida com deiscência somente no ápice.

No estudo realizado por Groeninckx *et al.* (2009), no qual foram utilizados dados moleculares de três marcadores plastidiais (*atpB-rbcL*, *rps16* e *trnL-trnF*) para se conhecer a circunscrição da tribo Spermacoceae, *Manettia* ficou posicionada dentro de Spermacoceae (Fig. 2). Nele, foram incluídas duas espécies de *Manettia*, uma amostragem não significativa para concluir se o gênero seria monofilético ou não.

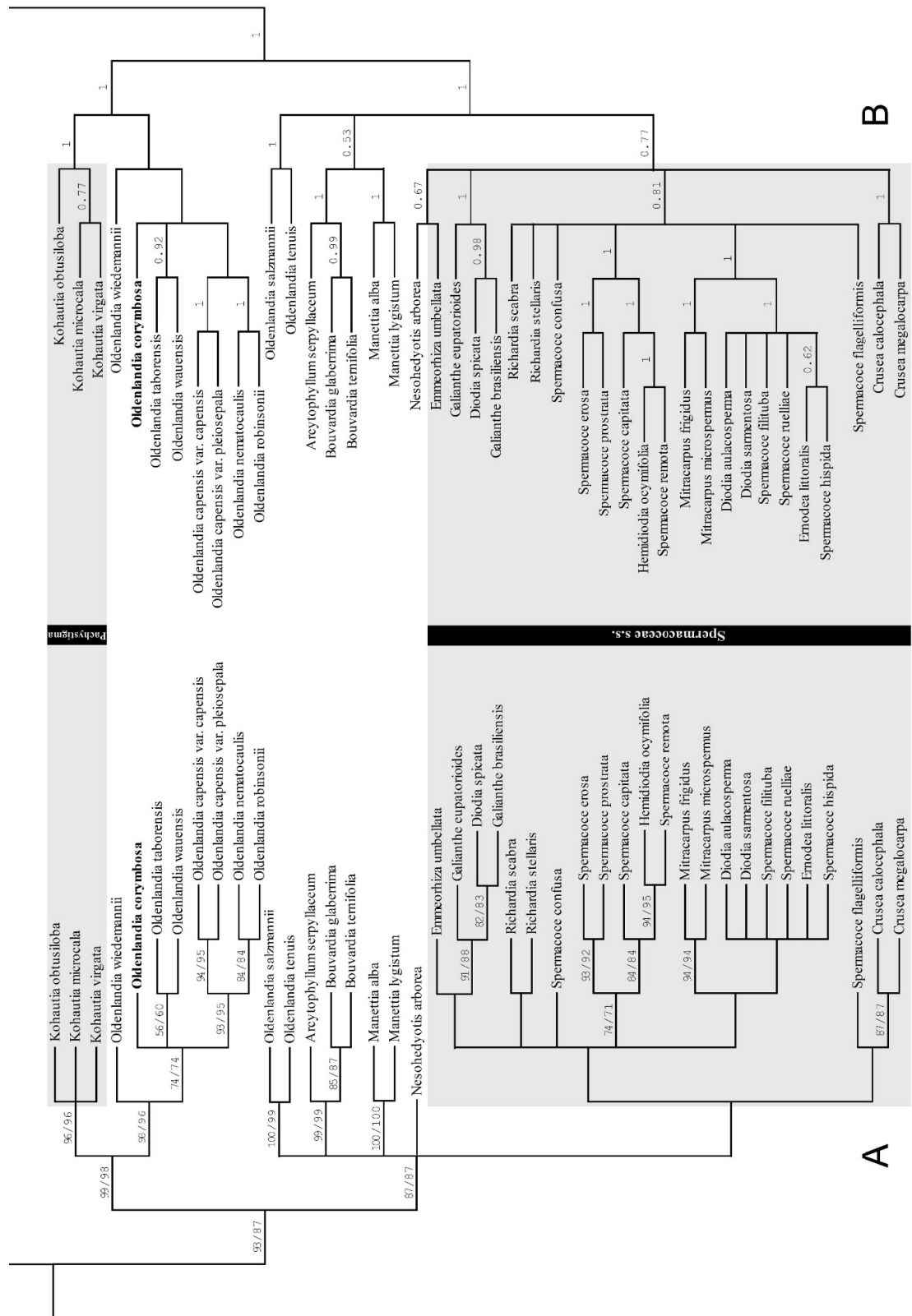


Figura 2. Parte da árvore de consenso strito da análise de dados combinados de *atpB-rbcL*, *rps16*, e *trnL-trnF*. Valores de Jackknife (esquerda) e bootstrap (direita) (.50) são indicados acima dos ramos.—B. Parte da árvore de análise Bayesiana baseada em dados combinados de *atpB-rbcL*, *rps16*, e *trnL-trnF*. As probabilidades posteriores são indicadas acima dos ramos.

JUSTIFICATIVA

O gênero *Manettia* teve o número de espécies ampliado com a descoberta de novas espécies e muitas delas não foram alocadas em seções por seus autores. Estas seções, até o momento, não haviam sido investigadas. Além disso, as seções *Ysginanthus* e *Lygistum* possuem poucos caracteres que distingam uma da outra. As espécies de *Manettia* descritas até o momento nunca foram abordadas em conjunto em estudo filogenético. Assim, o gênero necessita de um estudo mais abrangente para se avaliar as seções propostas por Wernham (1918,1919) e Steyermark (1978) e também para testar o monofilestimo do gênero, baseado em maior número de espécies.

OBJETIVOS

Esta tese é composta por três capítulos, apresentados de acordo com os periódicos em que serão submetidos, com os seguintes objetivos: 1) testar o monofiletismo do gênero e de suas categorias infragenéricas de acordo com os padrões filogenéticos observados nas análises; 2) testar os caracteres morfológicos que caracterizam as seções; 3) contribuir para a taxonomia do gênero, através de sinopse das espécies brasileiras e publicação de espécie nova.

REFERÊNCIAS

- APG III- 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.
- ANDERSSON, L. 1992. A provisional checklist of neotropical Rubiaceae. Scripta Botanica Belgica 1: 1-199.
- ANDERSSON, L. & PERSSON, C. 1991. Circumscription of the tribe Cinchoneae (Rubiaceae) – a cladistic approach. Plant Systematics and Evolution 178 (1/2): 65-94.
- ANDERSSON, L. & ROVA, J.H.E. 1999. The *rps16* intron and the phylogeny of the Rubioideae (Rubiaceae). Plant Systematics and Evolution 214: 161–186.
- ANTONELLI, A. NYLANDER, J.A.A, PERSSON, C. & SANMARTÍN, I. 2009. Tracing the impact of the Andean uplift on Neotropical plant evolution. Proc. Natl. Acad. Sci. 106: 9749-9754.

- BREMEKAMP, C.E.B. 1966. Remarks on the position, the delimitation and the subdivision of the Rubiaceae. *Acta Bot. Neerl.* 15: 1–33.
- BREMER, B. 1996a. Phylogenetic studies within Rubiaceae and relationships to other families based on molecular data. *Opera Botanica Belgica* 7: 33-50.
- BREMER, B. 1996b. Combined and separate analyses of morphological and molecular data in the plant family Rubiaceae. *Cladistics* 12: 21-40.
- BREMER, B., ANDREASEN, K. & OLSSON, D. 1995. Subfamilial and tribal relationships in the Rubiaceae based on *rbcL* sequence data. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 82: 383-397.
- BREMER, B. & ERIKSSON, O. 1992. Evolution of fruit characters and dispersal modes in the tropical family Rubiaceae. *Biological Journal of the Linnean Society* 47: 79-95.
- BREMER, B. & JANSEN, R. K. 1991. Comparative restriction site mapping of the chloroplast DNA implies new phylogenetic relationships within the Rubiaceae. *American Journal of Botany* 78: 198-213.
- BREMER, B. & MANEN, J.F. 2000. Phylogeny and classification of the subfamily Rubioideae (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution* 225: 43-72.
- BREMER, B. & ERIKSSON, O. 2009. Time tree of Rubiaceae. *Phylogeny and dating the families, subfamilies, and tribes. Int. J. Plant Sci.* 170(6): 766-793.
- BRIDSON, D.M. & VERDCOURT, R. 2003. Rubiaceae. In: Pope, G.V. (ed.). *Flora Zambesiaca*. Richmond, Royal Botanic Gardens, Kew. 5(3): 379-720.
- CHUNG, I. 1967. Studies in *Manettia* (Rubiaceae) sect. *Heterochlora* K. Schum. *Phytologia* 15: 272-288.
- CHUNG, I. 1968. Studies in *Manettia* (Rubiaceae) sect. *Pyrrhanthos* K. Schum. *Phytologia* 17: 353-366.
- DE CANDOLLE, A.P. 1830. *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis*. v. 4. Paris, Treuttel & Wurtz. p. 362-365.
- DELPRETE, P.G. 2004. Rubiaceae. Pp. 328-333 in: Smith, N.P., Heald, S.V., Henderson, A., Mori, S.A., Stevenson, D.W. (eds.), *Flowering Plants of the Neotropics*. Princeton University Press/New York Botanical Garden Press, USA.
- DESSEIN, S. 2003. Systematic Studies in the Spermacoceae (Rubiaceae). Ph.D. Dissertation, Katholieke Universiteit Leuven, Leuven, Belgium.

- DESSEIN, S.; OCHOTERENA, H.; DEBLOCK, P.; LENS, F.; ROBBRECHT, E.; SCHOLS, P.; SMETS, E.; VINCKIER, S. & HUYSMANS, S. 2005a. Palynological characters and their phylogenetic signal in Rubiaceae. *The Botanical Review* 71(3): 354-414.
- DWYER, J.D. 1980. Flora do Panamá. 179. Rubiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 67(2): 1-256.
- FAY, M.F., BREMER, B., PRANCE, G.T., VAN DER BANK, G.T.M., BRIDSON, D. & CHASE, M.W. 2000. Plastid *rbcL* sequence data show *Dialypetalanthus* to be a member of Rubiaceae. *Kew Bulletin* 55: 853-864.
- GOVAERTS, R., M. RUHSAM, L. ANDERSSON, E. ROBBRECHT, D. BRIDSON, A. DAVIS, I. SCHANZER & B. SONKÉ. 2014. World Checklist of Rubiaceae. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew. <http://www.kew.org/wcsp/rubiaceae/>, accessed 15 November 2014.
- GROENINCKX, I., DESSEIN, S., OCHOTERENA, H., PERSSON, C., MOTLEY, T.J., KÅREHED, J., BREMER, B., HUYSMANS, S. & SMETS, E. 2009. Phylogeny of the herbaceous tribe Spermacoceae (Rubiaceae) based on plastid DNA data. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 96: 109-132.
- HEYWOOD, V.H., BRUMMITT, R.K., CULHAM, A. & SEBERG, O. 2007. Flowering Plant Families of the World. Royal Botanic Gardens. Kew. 424p.
- HOOKE, J. D. 1873. Ordo LXXXIV. Rubiaceae. Pp. 7–151. *In*: G. Bentham & J. D. Hooker (eds), *Genera plantarum ad exemplaria imprimis in herbariis kewensibus servata definita*. Lovell Reeve & Co., London.
- KÅREHED, J. & B. BREMER. 2007. The systematics of Knoxieae (Rubiaceae) — Molecular data and their taxonomic consequences. *Taxon* 56: 1051–1076.
- MABBERLEY, D.J. 2008. The Plant-book. A Portable Dictionary of the Vascular Plants. 3a.ed. Cambridge University Press. Cambridge. 1040p.
- RAZAFIMANDIMBISON, S. G., C. RYDIN & B. BREMER. 2008. Evolution and trends in the Psychotrieae alliance (Rubiaceae) — A rarely reported evolutionary change of many-seeded carpels from one-seeded carpels. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 48 : 207 – 223 .
- ROBBRECHT, E. 1988. Tropical woody Rubiaceae. *Opera Botanica Belgica* 1: 1-271.
- ROBBRECHT, E. 1993. Supplement to the 1988 outline of the classification of the Rubiaceae: index to genera. *In*: Robbrecht, E. ed(s). *Advances in Rubiaceae*

macrosystematics. Opera Botanica Belgica. vol. 6. Meise: National Botanic Garden of Belgium p.173-196.

ROBBRECHT, E. & MANEN, J. F. 2006. The major evolutionary lineages of the coffee family (Rubiaceae, Angiosperms). Combined analysis (nDNA and cpDNA) to infer the position of *Coptosapelta* and *Luculia*, and supertree construction based on *rbcL*, *rps16*, *trnL-trnF* and *atpB-rbcL* data. A new classification in two subfamilies, Cinchonoideae and Rubioideae. Syst. Geogr. Pl. 76: 85–146.

ROGERS, G.K. 1984. *Gleasonia*, *Henriquezia* and *Platycarpum* (Rubiaceae). Flora Neotropica 39: 1-135.

SCHUMANN, K. 1888-1889. Rubiaceae. In: Martius, C.F.P. & Eichler, A.G. Flora Brasiliensis. Fleischer. Leipzig. 6(6): 4-466.

STANDLEY, P. C. 1921. Rubiaceae, Part 1. N. Amer. Fl. 31: 1-86.

_____. 1925. Journ. Wash. Acad. Sc. 15(1): 6.

_____. 1927. Rubiaceae from Mexico. Journ. Wash. Acad. Sc. 17(13): 337-338.

_____. 1929. Studies of American Plants. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 4: 270-277.

_____. 1930a. Studies of American Plants. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 8: 151-153.

_____. 1930b. The Rubiaceae of Colombia. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 7(1): 5-10.

_____. 1931a. The Rubiaceae of Ecuador. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 7(2): 185-188.

_____. 1931b. The Rubiaceae of Bolivia. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 7(3): 262-266.

_____. 1931c. The Rubiaceae of Venezuela. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 7(4): 354-357.

_____. 1931d. Studies of American Plants. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 8: 326-333.

_____. 1936. Studies of American Plants. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 11: 223.

_____. 1937. Studies of American Plants. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 17: 216.

_____. 1940. Studies of American Plants. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 22: 118-119.

_____ & L. O. WILLIAMS. 1975. Flora of Guatemala-Part IX (Rubiaceae). Fieldiana, Bot. 24: 1- 274.

STEYERMARK, J.A. 1972. Rubiaceae. In: Maguire, B., Wurdack, J.J. & Collaborators. Botany of the Guayana Highlands, part. IX. Memoirs of the New York Botanical Garden 23: 227-832.

_____. 1974. Rubiaceae. In: Lasser, T. & Steyermark, J.A. (eds). Flora da Venezuela. Instituto Botánico. Caracas. 9(1): 1-2070.

_____. 1978. New Rubiaceae from the Brazilian Planalto. Brittonia 30 (1): 34-38.

VERDCOURT, B. 1958. Remarks on the classification of the Rubiaceae. Bull. Jard. Bot. Etat. 28: 209-290.

WERNHAM, H.F. 1918. The genus *Manettia*. Tropical American Rubiaceae. J. Bot. 57 (Suppl.): 1-16.

WERNHAM, H.F. 1919. The genus *Manettia*. Tropical American Rubiaceae. J. Bot. 57 (Suppl.): 17-44.

CAPÍTULO 1

Filogenia de *Manettia* Mutis ex L. (Rubiaceae) baseada em dados moleculares e análise de evolução morfológica

RESUMO

Manettia é um gênero neotropical que compreende espécies de plantas herbáceas ou arbustivas, geralmente trepadoras, distribuído desde o México, América Central, Antilhas até América do Sul, onde chega até o Uruguai. As relações filogenéticas das espécies de *Manettia* e algumas espécies de *Arcytophyllum* e *Bouvardia* foram inferidas a partir da variação de sequências de nucleotídeos de três marcadores plastidiais (*rps16*, *rbcl* e *trnL-F*) e um marcador nuclear (ITS). As análises filogenéticas dos dados combinados de DNA de 30 espécies sugerem que *Manettia* é monofilético. Três das cinco seções aceitas anteriormente são monofiléticas (*Ysginanthus*, *Pyrrhanthos*, *Heterochlora*), porém os caracteres morfológicos que as distinguiam não encontraram apoio nas análises. A reconstrução de área ancestral mostrou que *Manettia* tem uma possível origem nos Andes e teria se dispersado pela América Central, Brasil, Argentina e Paraguai.

Palavras-chave: Rubioideae, Spermacoceae, filogenia, PCR, marcadores plastidiais, ITS.

INTRODUÇÃO

Manettia é um gênero de plantas herbáceas ou arbustivas, geralmente trepador (Fig. 2), de Rubiaceae. É distribuído desde o México, América Central, Antilhas até América do Sul, onde chega até o Uruguai (Wernham, 1918). *Manettia* é um gênero de plantas com o número de espécies ainda incerto, variando de ca. 80 espécies (Wenham 1918; Mabberley 2008) até 123, de acordo com Andersson (1992). O continente sul-americano é onde se encontra a grande maioria das espécies, e neste ocorrendo em dois principais centros de diversidade: (1) O oeste da América do Sul – incluindo Colômbia, oeste da Venezuela, Equador, Peru e Bolívia e (2) Leste tropical da América do Sul – incluindo a costa leste do Brasil, do Ceará até

o norte de São Paulo, e a parte tropical do Paraguai. Ao lado dessas, há duas áreas menores de distribuição: (3) Norte – incluindo o leste da Venezuela, Trinidad e Guiana e (4) Zona temperada da América do Sul – incluindo o sudeste do Paraguai, Sul do Brasil, Uruguai e norte da Argentina (Wernham, 1918).

Para Wernham (1918), *Manettia* era dividida em 4 seções, divisão esta baseada em caracteres morfológicos: Sect. *Pyrrhanthos* K. Schum., Sect. *Ysginanthus* Mutis ex L, Sect. *Heterochlora* K. Schum., Sect. *Lygistum* DC. Mais tarde, Steyermark (1978) propôs mais uma seção, baseada numa espécie de hábito ereto descrita para o cerrado do Brasil, *M. irwinii* Steyermark. Sect. *Irwinianthus*.

Tradicionalmente, *Manettia* era posicionado na tribo Cinchoneae (De Candolle, 1830; Schumann, 1889; Steyermark, 1974 e Robbrecht, 1988) por possuir o seguinte conjunto de caracteres: ovário com numerosos óvulos por lóculo, fruto seco e semente alada. Porém, pelo fato de apresentar ráfides, *Manettia* foi retirado de Cinchoneae e colocado em Hedyotideae por Verdcourt (1958) e Bremekamp (1966).

Andersson & Persson (1991), usando análise cladística, sugeriram que a presença ou ausência de ráfides não seria uma característica relevante na separação das tribos. Desta forma, reavaliaram os gêneros da tribo Cinchoneae e concluíram que *Manettia* deveria ser reposicionada na tribo Hedyotideae, subfamília Rubioideae, juntamente com *Bouvardia*, *Hedyotis* e *Hindsia*, baseado nos seguintes caracteres compartilhados: placenta ligada centralmente por um estipe, semente com testa formando proeminências concêntricas na ala, lenho com fibras de traqueídes, vasos predominantemente solitários e frutos do tipo cápsula loculicida com deiscência somente no ápice.

No estudo realizado por Groeninckx *et al.* (2009), no qual foram utilizados dados moleculares de três marcadores plastidiais (*atpB-rbcL*, *rps16* e *trnL-trnF*) para se conhecer a circunscrição da tribo Spermacoceae, *Manettia* ficou posicionada dentro de Spermacoceae. Nele, foram incluídas duas espécies de *Manettia*, uma amostragem não significativa para concluir se o gênero seria monofilético ou não.

Manettia, portanto, necessita de um estudo mais abrangente para se avaliar as seções propostas pelos autores e também para testar se o gênero é monofilético, como afirmado por Groeninckx *et al.* (2009), baseado em maior número de espécies.

Dadas as considerações acima, os objetivos do presente trabalho foram: elucidar as relações filogenéticas dentro de *Manettia* baseado em sequências de quatro marcadores, três do DNA plastidial (*rbcL*, *rps16*, *trnL-F*) e um do DNA nuclear (ITS); testar a classificação

infragenérica para *Manettia* utilizando também evolução de alguns caracteres morfológicos; contribuir para aumentar o conhecimento sobre a filogenia da tribo Spermacoceae.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem das espécies

A amostragem compreende 52 espécies de *Manettia*, o que corresponde a 65% do total da diversidade do gênero, abrangendo seu espectro de variação morfológica e distribuição geográfica. As informações sobre materiais testemunhos são apresentadas na Tabela 2. Além das espécies de *Manettia* foram incluídas cinco espécies de *Arcytophyllum* como grupo externo e três de *Bouvardia* como grupo-irmão de *Manettia*. Porém, para a análise combinada, foram utilizados 30 táxons que obtiveram bons resultados para todos os marcadores utilizados.

Extração, regiões de DNA utilizadas e sequenciamento

O DNA para o sequenciamento foi extraído de amostras (1-23 mg) desidratadas em sílica gel e de material de herbário utilizando o DNAeasy Mini Kit[®] da QIAGEN, com pequenas modificações, como a inclusão de Proteinase K.

Um método para melhorar os PCRs de amostras de herbário foi a utilização de TBT-PAR (Trehalose, Bovine Serum Albumin e Polysorbate-20 (Tween-20), método encontrado em Samarakoon *et al.* (2013). Utilizando tal reagente junto ao mix de PCR, bons resultados foram obtidos para todas amostras, tanto de herbário como de sílica. Os produtos de PCR foram analisados em eletroforese horizontal em gel de agarose 1%, com tampão TBE, corados com brometo de etídio e visualizados por iluminação com luz ultravioleta.

Os seguintes primers foram utilizados na caracterização molecular: *rbcL*, *rps16*, *trnL-F* e ITS. O íntron *rps16* foi amplificado usando os primers *rpsF* e *rpsR2* descritos por Oxelman *et al.* (1997). Para a amplificação do espaçador intergênico *trnL-F*, foram usados os primers *c* e *d* descritos por Taberlet *et al.* (1991). Foram também incluídos os primers de *rbcL* (1F-724R) e de ITS (P17-26S82R) nas análises.

Para as reações de amplificação de *trnL-F*, a seguinte programação foi utilizada: desnaturação inicial de 99°C (10 min), seguida de 35 ciclos de 94°C (30 s), 56°C (30 s), 72°C (45 s) e terminando com 72°C (3 min) para permitir completa extensão dos produtos de

reação. A região *rps16* foi amplificada a partir do seguinte programa: desnaturação inicial de 99°C (10 min), 94°C (2 min), seguida de 33 ciclos de 94°C (1 min), 50°C (45 s), 72°C (1 min 20 s) e terminando com 72°C (5 min). A região ITS foi amplificada pelo seguinte programa: desnaturação inicial de 95°C (4 min), seguida de 40 ciclos de 94°C (30 s), 58°C (1 min), 72°C (1 min 30 s) e terminando com 72°C (7 min). E, finalmente, para o gene *rbcL*, 1F e 724R, o programa usado foi o seguinte: 95°C (2.5 min), 35 ciclos de 95°C (30 s), 48°C (30 s), 72°C (30 s), finalizando com 72°C (10 min).

Os produtos de PCR foram purificados com ExoSap clean-up kit (Fermentas, St. Leon-Rot, Germany) e enviados para sequenciamento na empresa Macrogen Korea.

Edição de sequências e alinhamento

Após todos os procedimentos laboratoriais terem sido finalizados, 74 acessos foram conseguidos de 52 espécies de *Manettia*, incluindo também cinco de *Arcytophyllum* e três de *Bouvardia*. Os fragmentos sequenciados foram importados para o programa computacional Geneious (Kearse *et al.* 2012), no qual editamos as sequências e foram unidos os fragmentos direto e reverso em uma única sequência. Tais sequências foram checadas no BLAST do GenBank e então alinhadas utilizando MAFFT vs. 6 (<http://mafft.cbcr.jp/alignment/server>) com parâmetros padronizados. Os alinhamentos produzidos foram checados visualmente e foram feitos poucos ajustes manuais para assegurar um bom alinhamento final.

Análises Filogenéticas

Foi utilizado o programa jModeltest (Posada, 1998) para selecionar o melhor modelo evolucionário para cada matriz individual, baseado em *Akaike Information Criterion* (AIC, Akaike, 1973), antes das análises filogenéticas. O melhor modelo para as regiões *rbcL*, *rps16* e *trnL-F* c/d foi GTR+G, enquanto o GTR+I+G foi o melhor modelo para o ITS.

As Análises Bayesianas foram conduzidas usando Cadeias de Markov Chain Monte Carlo (MC³) como implementadas no programa computacional Mr. Bayes v.3.2 (Ronquist *et al.*, 2012), por meio do portal CIPRES <https://www.phylo.org> (Miller *et al.*, 2010). Duas corridas independentes com quatro cadeias cada (uma fria e três quentes) iniciando a partir de árvores aleatórias foram realizadas por 20x10⁶ gerações, amostrando a cada 2000 gerações. A convergência foi determinada examinando os valores PSRF. O *effective sample size* (ESS) foi monitorado utilizando o programa Tracer v.1.6 (Rambaut & Drummond, 2013). Para

sumarizar a probabilidade posterior das árvores, descartamos 25% das amostras como *burnin*, e calculamos a árvore de consenso de maioria.

Análises de Máxima Verossimilhança (ML) foram conduzidas com o programa RaxMLGUI (Silvestro & Michalak, 2012). Para essas análises realizamos uma busca de ML com *bootstrap* rápido, usando 1.000 réplicas e o modelo GTRGAMMA.

Na primeira análise, dados dos três marcadores plastidiais e de ITS foram combinados, formando uma matriz de 3.270 caracteres. Um teste de topologia foi feito para detectar possíveis incongruências entre os dois conjuntos de dados. Duas árvores filogenéticas foram estimadas utilizando-se Análise Bayesiana e Máxima Verossimilhança (ML).

Para segunda análise, utilizando análise Bayesiana, foram acrescentados os gêneros da tribo Spermacoceae utilizados no estudo de Groeninkx *et al.* (2009). Foram utilizadas sequências de *rps16* geradas no presente estudo juntamente com os dados de Groeninkx *et al.* (2009), a fim de se conhecer o grupo irmão de *Manettia*.

Evolução de caracteres morfológicos

Para a reconstrução de estados de caracteres ancestrais morfológicos, foi utilizada a melhor árvore de dados combinados gerada pela análise Bayesiana (Fig. 4) utilizando o programa Mesquite v. 2.75 (Maddison & Maddison, 2011). Foram escolhidos cinco caracteres utilizados por Wernham (1918,1919) para separar as seções: forma da corola, cor da flor, presença de anel de tricomas na corola, formato do disco nectarífero e hábito. A reconstrução de estados de caráter ancestral foi realizada utilizando o modelo de Máxima Verossimilhança Mk1 (com igual probabilidade de mudança entre os estados) como implementado no Mesquite. Esta metodologia reconstrói os estados ancestrais para cada nó interno e maximiza a probabilidade de estados observados nas espécies sob um modelo de evolução. Todos os caracteres tiveram o mesmo peso e foram considerados não ordenados na análise.

Reconstrução de área ancestral

A variação da distribuição de *Manettia* foi dividida em quatro áreas principais, baseada na presença das espécies. Essas áreas são: (A) Mata Atlântica, (B) Cerrado, (C) América Central e (D) Andes (Fig. 7). Foi utilizada a análise S-DIVA implementada no software RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies) para reconstruir as possíveis áreas ancestrais de *Manettia* na árvore filogenética gerada por análise Bayesiana, e para detectar os eventos geradores dos padrões de distribuição nos nós ancestrais e terminais.

RESULTADOS

Análises Filogenéticas

Os resultados de *rps16* e *trnL-F* se mostraram menos resolvidos quando comparados ao *rbcL* e ITS e dados combinados. Considerando que os dados combinados incluem os dados dos quatro marcadores com congruência e boa resolução, nós discutiremos os resultados baseados nas análises combinadas. As análises para cada marcador em separado se encontram como material complementar (Fig. 14-17).

O grupo irmão de *Manettia* ainda é incerto. Embora espécies de *Bouvardia* apareçam como prováveis grupos irmãos (sendo que *Bouvardia* aparenta ser parafilético), esta relação não é sustentada na análise com mais representantes de *Spermacoceae* (Fig. 6).

Como resultado, o monofilismo de *Manettia* está comprovado tanto pela Análise Bayesiana (PP=1.0) e como pela Análise de Máxima Verossimilhança (BS=100%) utilizando dados combinados (Fig. 4 e 5).

Dois grupos monofiléticos principais emergiram na topologia: um clado que compreende nove espécies (Clado 1) e outro clado que compreende 21 espécies (Clado 2). O clado 1 é composto por espécies exclusivamente pertencentes à seção *Ysginanthus* e possui suporte PP=1 e BS=92% (Fig. 4 e 5).

O clado 2 possui suporte de PP=1 e BS=100% e é dividido em dois grupos menores, com sustentações diferentes nas análises Bayesiana e ML. O primeiro grupo é o A com alta sustentação (PP=1 e BS=100%) possuindo algumas espécies de *Lygistum* e incluindo a espécie representante da seção monoespecífica *Irwinianthus*. O segundo grupo B é o segundo grupo dentro do clado 2, e se apresenta com topologias diferentes nas análises Bayesiana e ML. Na análise Bayesiana, *Manettia barbata* e *Manettia* sp 10 (PP=1) aparecem como grupo irmão do grupo C (PP=0,99). O grupo C, por sua vez, é dividido em: D (PP=1) que comporta representantes da seção *Pyrrhanthus* (*M. chrysoderma*, *M. gracilis* e *M. cordifolia*), formou um grupo monofilético com alto suporte na árvore de consenso (PP=1.0 e BS=99%). E por último, verifica-se o grupo E (PP=1, BS=87%) que é composto por espécies da seção *Lygistum* e pela seção *Heterochlora*, que contou com apenas uma espécie representante, *Manettia luteorubra*.

A seção *Lygistum* não formou um grupo monofilético, além de conter dentro de si a espécie pertencente à seção *Irwinianthus* de Steyermark (1978).

Entre as análises Bayesiana e Verossimilhança houve pouca diferença na topologia, exceto o grupo formado por *M. barbata* e *Manettia* sp 10, que ora é grupo irmão do grupo B e mais próximo de *Pyrrhanthos* na análise Bayesiana (Fig. 4), ora é grupo irmão de um grupo mais amplo, no caso da análise de Verossimilhança (Fig. 5). Isso pode ser explicado pela baixa sustentação nos ramos em ambas análises.

Evolução de caracteres morfológicos

Para a reconstrução de estados ancestrais dos caracteres morfológicos foi usada a árvore de consenso de dados combinados obtida na Análise Bayesiana (Fig. 4). As árvores com as reconstruções de estados ancestrais são dadas nas figuras 8-13. Para cada caráter foi preparada uma árvore mostrando o estado ancestral mais provável em cada ramo.

O hábito ereto (Fig. 8) é um caráter que já está presente em *Bouvardia* e *Arcytophyllum* e evoluiu de forma convergente em uma espécie de *Manettia*, *M. irwinii*. Nas outras espécies do gênero, o hábito é sempre trepador.

O caráter forma da corola (Fig. 9) possui quatro estados de caráter: hipocrateriforme, infundibuliforme, tubuloso-claviforme e urceolada. A única espécie com corola urceolada é *M. luteorubra*. Além disso, o tipo de corola tubuloso-claviforme aparece para todas as espécies da seção *Pyrrhanthos*, porém é característica de *M. irwinii* e de *M. parvula*, as quais pertencem a outros clados. O tipo de corola hipocrateriforme e infundibuliforme surge várias vezes dentro do gênero, não havendo um padrão evidente para os clados.

A cor de flor (Fig. 10) em *Manettia* conta com cinco estados de caráter distintos sendo eles: branca, vermelha, vermelho e amarelo, rosa e roxa. A corola vermelha é um possível estado ancestral, evoluindo para corola branca independentemente nos clados. As espécies que possuem corola rosa são *M. angamarcensis* e *M. canescens*. *Manettia trianae* é a única, na análise, que possui corola roxa. Também pode ser observado que *M. luteorubra*, representante da seção *Heterochlora*, possui corola de cor vermelha e amarela. O estado de caráter corola vermelha aparece tanto em *Bouvardia* e também várias vezes independentemente em *Manettia*. O interessante é que todas as espécies representantes da seção *Pyrrhanthos* possuem corola vermelha.

O caráter tricomas na corola (Fig. 11) possui seis estados de caráter (tricomas na base da corola, tricomas na posição proximal da corola, tricomas moliniformes na metade superior da corola, tricomas moliniformes da metade superior até a fauce da corola, anel de tricomas acima da base da corola e glabra) e aparentemente não segue um padrão. Todas as espécies

do clado formado por *M. chrysoderma*, *M. gracilis* e *M. cordifolia* possuem tricomas na base da corola. Porém este estado é convergente para outras espécies em diferentes grupos, como em *M. trianae*, *M. glaziovii*, *Manettia* 11 e *Manettia* sp 14. Assim, esse caráter não sinaliza uma sinapomorfia para nenhum grupo.

Em *Manettia*, o ovário possui disco nectarífero e este apresenta três estados de caráter (Fig. 12): abaulado e contínuo sobre o ovário, plano e contínuo sobre o ovário e contínuo e aderido ao tubo do cálice. O caráter ancestral possivelmente é disco nectarífero plano e contínuo sobre o ovário. Há uma mudança para contínuo e aderido ao tubo do cálice no clado formado pelas espécies da seção *Ysginanthus*. Neste mesmo clado, houve reversão para o estado anterior, disco nectarífero plano e contínuo sobre o ovário. As espécies *M. luteorubra* (seção *Heterochlora*), *M. irwinii* (seção *Irwinianthus*) e representantes da seção *Pyrrhanthos* apresentam disco nectarífero abaulado e contínuo sobre o ovário, que se originou independentemente nesses grupos. O restante das espécies, as quais fariam parte da seção *Lygistum* se esta fosse monofilética, apresentam o estado ancestral disco nectarífero plano e contínuo sobre o ovário.

O padrão de inflorescência observado na maioria das espécies de *Manettia* é do tipo axilar (Fig. 13), porém somente *M. irwinii* possui inflorescência terminal, assim como os gêneros próximos, *Bouvardia* e *Arcytophyllum*.

Reconstrução de áreas ancestrais

Manettia provavelmente teve uma origem andina D (Fig. 7), com um evento de dispersão para a área de cerrado B, seguido de vicariância no clado *M. irwinii*-*M. paniculata* (nó 59) e outro evento de dispersão de D, desta vez para a área A, no nó 54.

Dois grupos podem ser observados na análise: Uma área que corresponde a A (nó 54) consistindo principalmente em espécies encontradas na parte leste do Brasil. A outra área corresponde às espécies andinas e da América Central (nós 63 e 72).

Há uma predominância de eventos de dispersão em *Manettia*, ou seja, uma tendência à expansão de áreas em determinados clados, seguido por eventos de vicariância e/ou extinção nos nós próximos aos táxons terminais.

DISCUSSÃO

Considerando que *Manettia* é um grupo monofilético, sustentado pelas presentes análises moleculares, se pode discutir os clados internos que se formaram e aqueles que não se mantiveram. Para Wernham (1918, 1919), as seções de *Manettia* eram identificadas por características morfológicas da flor, como por exemplo, forma da corola, formato do disco nectarífero, presença de tricomas na corola.

As espécies da seção *Ysginanthus* formaram um grupo monofilético nas análises filogenéticas, mas não possui caracteres morfológicos que sustentem o grupo, pois os caracteres utilizados por Wernham foram variados na análise morfológica.

Outro grupo que também se mostrou monofilético tanto na análise Bayesiana como na ML foi o clado formado por espécies da seção *Pyrrhanthos*. Este grupo possui caracteres comuns como cor vermelha da flor, disco nectarífero abaulado e contínuo sobre o ovário, corola infundibuliforme e tricomas na base da corola. Porém, tais caracteres aparecem em outros clados, o que não se pode definir como sinapomorfias para a seção *Pyrrhanthos*.

As seções *Heterochlora* e *Irwinianthus*, que contaram com apenas um representante, também se mostraram monofiléticas nas análises.

A seção *Lygistum* antes definida por Wernham (1918, 1919) por caracteres morfológicos, não foi corroborada pelas análises filogenéticas. Há a necessidade de se encontrar outras características que possam definir os diversos grupos resultantes das análises, além da inclusão de mais táxons na filogenia.

Para Wernham (1918, 1919), as seções de *Manettia* eram identificadas por características morfológicas da flor, como por exemplo, forma da corola, formato do disco nectarífero, presença de tricomas na corola. Dessa forma, nem todas as seções de *Manettia* são naturais. Outros caracteres morfológicos devem ser encontrados para se tentar definir melhor cada grupo.

Manettia irwinii possui características mais próximas do grupo irmão (*Bouvardia*) e do grupo externo (*Arcytophyllum*) do que com as outras espécies de *Manettia*. Como os outros dois gêneros, *M. irwinii* possui hábito ereto e inflorescências terminais. Contudo, continua a fazer parte de *Manettia* agrupada dentre as espécies andinas, especificamente, próxima à *M. paniculata* do Peru. Tal posicionamento pode ser observado tanto na análise Bayesiana como na análise de Máxima Verossimilhança. Uma hipótese seria a dispersão desta espécie desde o Peru até a região central do Brasil, adaptando-se ao bioma cerrado como tantas outras mais

espécies lianescentes as quais adquiriram hábito ereto. Ou ainda, um evento de vicariância, no qual o ancestral de *M. irwinii* poderia ter tido uma distribuição mais ampla desde os Andes até o Planalto Central brasileiro, onde hoje é encontrada.

A reconstrução de área ancestral mostra que *Manettia* possivelmente se originou nos Andes, dispersando para a América Central, Brasil, Argentina e Paraguai. Os ambientes preferenciais são borda de matas, mas há espécies que habitam ambientes mais abertos, como o cerrado.

Os próximos passos são a inclusão de mais espécies na filogenia além da elaboração de *Manettia* em uma *supertree* da tribo Spermacoceae utilizando mais marcadores a fim de se descobrir seu grupo irmão, o que não ficou claro no presente estudo com o marcador *rps16*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AKAIKE, H. 1973. Maximum likelihood identification of Gaussian autoregressive moving average models. *Biometrika*, 60 (2), 255-265.
- ANDERSSON, L. & PERSSON, C. 1991. Circumscription of the tribe Cinchoneae (Rubiaceae) – a cladistic approach. *Plant Systematics and Evolution* 178(1/2): 65-94. 79:1171-1184.
- BREMEKAMP, C.E.B. 1966. Remarks on the position, the delimitation and the subdivision of the Rubiaceae. *Acta Bot. Neerl.* 15: 1–33.
- CHUNG, I. 1967. Studies in *Manettia* (Rubiaceae) sect. *Heterochlora* K. Schum. *Phytologia* 15: 272-288.
- CHUNG, I. 1968. Studies in *Manettia* (Rubiaceae) sect. *Pyrrhanthos* K. Schum. *Phytologia* 17: 353-366.
- DE CANDOLLE, A.P. 1830. *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis*. v. 4. Paris, Treuttel & Wurtz. p. 362-365.
- DWYER, J.D. 1980. Flora do Panamá. 179. Rubiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 67(2): 1-256.
- GROENINCKX, I., DESSEIN, S., OCHOTERENA, H., PERSSON, C., MOTLEY, T.J., KAREHED, J., BREMER, B., HUYSMANS, S. & SMETS, E. 2009. Phylogeny of the herbaceous tribe Spermacoceae (Rubiaceae) based on plastid DNA data. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 96: 109-132.

- KEARSE, M., MOIR, R., WILSON, A., STONES-HAVAS, S., CHEUNG, M., STURROCK, S., BUXTON, S., COOPER, A., MARKOWITZ, S., DURAN, C., THIERER, T., ASHTON, B., MENTJIES, P., & DRUMMOND, A. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12), 1647-1649.
- MABBERLEY, D.J. 2008. The Plant-book. A Portable Dictionary of the Vascular Plants. 3a.ed. Cambridge University Press. Cambridge. 1040p.
- MACIAS, L. 1998. Estudos taxonômicos do gênero *Manettia* Mutis ex L. nom. cons. (Rubiaceae) no Brasil, Paraguai, Argentina e Uruguai. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas. 356p.
- MILLER, M.A., PFEIFFER, W., AND SCHWARTZ, T. 2010. "Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees" in Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 14 Nov. 2010, New Orleans, LA pp 1 - 8.
- POSADA, D. & CRANDALL, K.A. (1998) Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* 1: 817–818. <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/17.8.754>
- RAMBAUT, A. & DRUMMOND, A.J. (2013) Tracer v1.6. Available from: <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- ROBBRECHT, E. 1988. Tropical woody Rubiaceae. *Opera Botanica Belgica* 1: 1-271.
- SCHUMANN, K. 1888-1889. Rubiaceae. In: Martius, C.F.P. & Eichler, A.G. *Flora Brasiliensis*. Fleischer. Leipzig. 6(6): 4-466.
- SILVESTRO, D. AND MICHALAK, I. 2012. RaxmlGUI: a graphical front-end for RAxML. *Organisms Diversity & Evolution* 12, 335-337.
- STANDLEY, P. C. 1921. Rubiaceae, Part 1. *N. Amer. Fl.* 31: 1-86.
- _____. 1925. *Journ. Wash. Acad. Sc.* 15(1): 6.
- _____. 1927. Rubiaceae from Mexico. *Journ. Wash. Acad. Sc.* 17(13): 337-338.
- _____. 1929. Studies of American Plants. *Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser.* 4: 270-277.
- _____. 1930a. Studies of American Plants. *Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser.* 8: 151-153.
- _____. 1930b. The Rubiaceae of Colombia. *Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser.* 7(1): 5-10.
- _____. 1931a. The Rubiaceae of Ecuador. *Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser.* 7(2): 185-188.
- _____. 1931b. The Rubiaceae of Bolivia. *Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser.* 7(3): 262-266.
- _____. 1931c. The Rubiaceae of Venezuela. *Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser.* 7(4): 354-357.
- _____. 1931d. Studies of American Plants. *Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser.* 8: 326-333.
- _____. 1936. Studies of American Plants. *Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser.* 11: 223.

- _____. 1937. Studies of American Plants. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 17: 216.
- _____. 1940. Studies of American Plants. Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 22: 118-119.
- _____ & L. O. WILLIAMS. 1975. Flora of Guatemala-Part IX (Rubiaceae). Fieldiana, Bot. 24: 1- 274.
- STEYERMARK, J.A. 1978. New Rubiaceae from Brazilian Planalto. Brittonia 30 (1): 34-38.
- VERDCOURT, B. 1958. Remarks on the classification of the Rubiaceae. Bull. Jard. Bot. Etat. 28: 209-290.
- WERNHAM, H.F. 1918. The genus *Manettia*. Tropical American Rubiaceae. J. Bot. 57 (Suppl.): 1-16.
- WERNHAM, H.F. 1919. The genus *Manettia*. Tropical American Rubiaceae. J. Bot. 57 (Suppl.): 17-44.



Figura 1. A. *Manettia angamarcensis* Benoist. B. *M. beyrichiana* K. Schum. C. *M. canescens* K. Schum. D. *M. paraguariensis* Chodat. E. *M. mitis* (Vell.) K. Schum. F. *Manettia reclinata* L. G. *Manettia trianae* Wernh. H. *M. weberbaueri* K. Krause. I. Detalhe do fruto. J. Detalhe da estípula. (Fotos: Marcela F. Silveira).

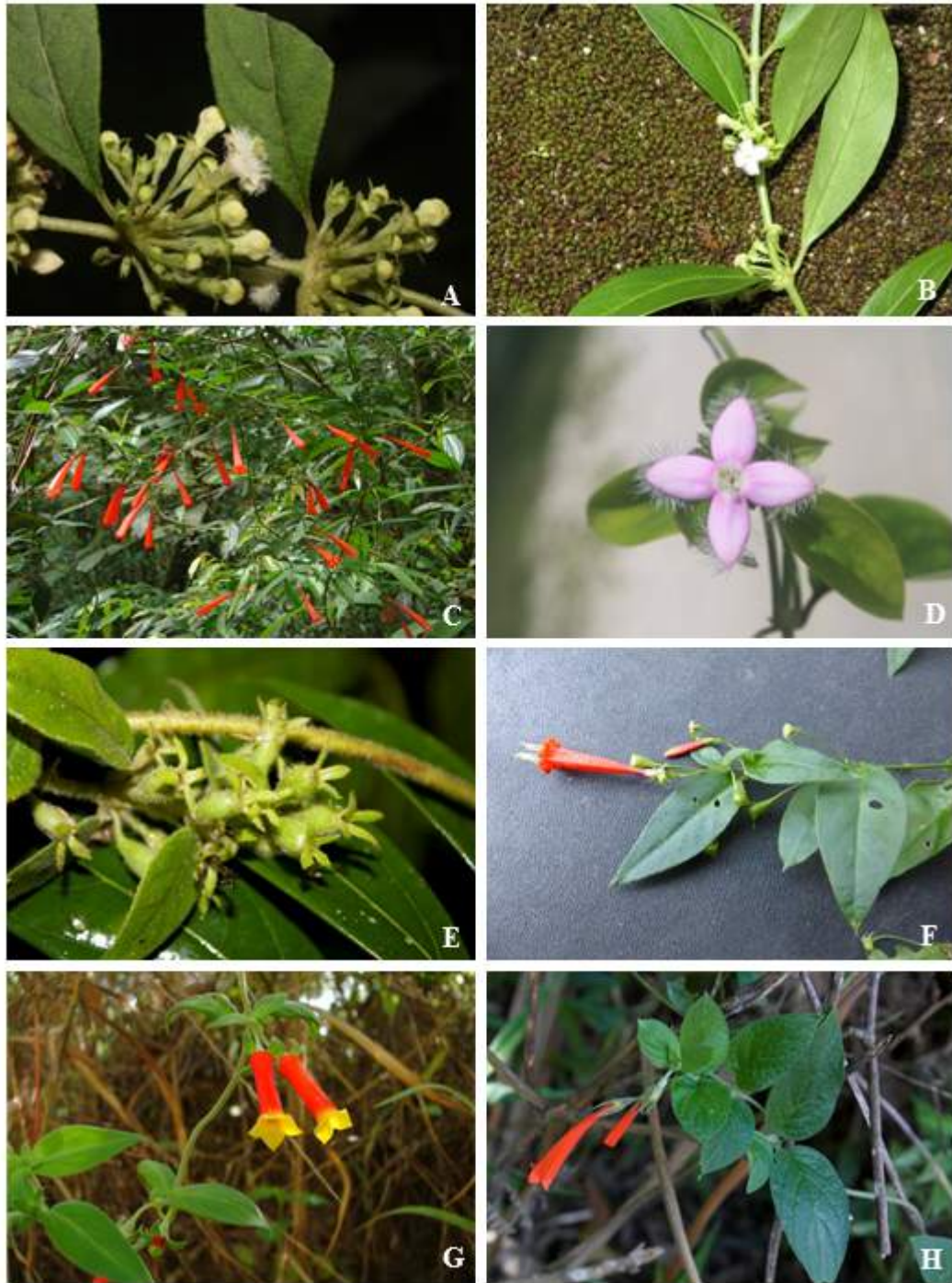


Figura 2. A. *Manettia congesta* (Vell.) K. Schum., B. *M. congestoides* Wernh., C. *M. chrysoderma* Sprague, D. *M. fimbriata* Cham. & Schltdl., E. *M. glaziovii* Wernh., F. *M. gracilis* Cham. & Schltdl., G. *M. luteorubra* (Vell.) Benth., H. *M. pubescens* Cham. & Schltdl. (Fotos: Marcela F. Silveira).

Tabela 2. Lista de espécies utilizadas neste estudo: dados sobre os vouchers e origem do material; “-“ amostras cujas tentativas de amplificação falharam; sigla de herbário (...).

Táxon	Vouchers	Localização	Origem	ITS	<i>rbcl</i>	<i>rps16</i>	<i>trnL-trnF</i>
<i>Arcytophyllum muticum</i>	Andersson <i>et al.</i> 2195 (GB)	Bolívia	sílica	-	•	•	•
<i>Arcytophyllum setosum</i>	Andersson <i>et al.</i> 2196 (GB)	Colômbia	sílica	•	•	•	•
<i>Arcytophyllum thymifolium</i>	Stahl 4481 (GB)	Colômbia	sílica	•	•	•	•
<i>Arcytophyllum sp1</i>	CMG 4054 (GB)	Bolívia	sílica	•	•	•	•
<i>Arcytophyllum sp2</i>	Delprete <i>et al.</i> 237 (GB)	Bolívia	sílica	•	•	•	•
<i>Bouvardia ternifolia 1</i>	Antonelli 633 (GB)	México	sílica	•	•	•	•
<i>Bouvardia ternifolia</i>	Antonelli 618 (GB)	México	sílica	•	•	•	•
<i>Bouvardia sp1</i>	Antonelli 660 (GB)	México	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia sp1</i>	Persson 1699 (GB)	Equador	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia sp2</i>	Persson 1633 (GB)	Equador	sílica	•	•	•	-
<i>Manettia sp3</i>	Persson 1623 (GB)	Equador	sílica	•	•	•	-
<i>Manettia sp4</i>	Persson 707 (GB)	Equador	sílica	•	•	•	-
<i>Manettia sp5</i>	Persson 1739 (GB)	Equador	sílica	-	•	•	•
<i>Manettia sp6</i>	Alzate 214 (GB)	Equador	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia sp7</i>	Persson 2115 (GB)	Equador	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia sp8</i>	Persson 2128 (GB)	Equador	sílica	•	•	•	-
<i>Manettia sp9</i>	Persson 2481 (GB)	Equador	sílica	•	•	•	-
<i>Manettia sp10</i>	Persson 517 (GB)	Equador	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia sp11</i>	CMG 4073 (GB)	Equador	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia sp13</i>	L. Macias <i>et al.</i> 96.98 (UEC)	Brasil	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia sp 14</i>	G. Heiden 2116 (SPF)	Colômbia	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia sp15</i>	G. Heiden 2117 (SPF)	Colômbia	sílica	•	-	•	•
<i>Manettia sp16</i>	M.F.Silveira 352 (LPB)	Bolívia	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia alba</i>	J.R.I. Wood & M. Mendoza 19123 (LPB)	Peru	herbário	-	•	•	•
<i>Manettia angamarcensis</i>	E. Asplund 18485 (NY)	Equador	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia angamarcensis</i>	C. Persson 1674 (GB)	Equador	sílica	•	•	-	•
<i>Manettia barbata</i>	P.B. Marcum <i>et al.</i> 4504 (MO)	Costa Rica	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia beyrichiana</i>	M.F.Silveira 352 (UEC)	Brasil	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia calycosa</i>	L.J. Dorr & B. Stergios 8807 (MO)	Equador	herbário	-	•	-	-
<i>Manettia campanulacea</i>	J.Y. Tamashiro <i>et al.</i> 895 (ESA)	Brasil	herbário	•	•	•	-
<i>Manettia canescens</i>	C. Persson 1696 (GB)	Equador	sílica	•	•	•	•

<i>Manettia chrysoderma</i>	M.F.Silveira 05 (UEC)	Brasil	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia coerulea</i>	T. Clase <i>et al.</i> 3842 (US)	Colômbia	herbário	-	-	-	•
<i>Manettia congestoides</i>	M.F.Silveira 08 (UEC)	Brasil	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia cordifolia</i>	R. Michel & E. Mayta 4561 (LPB)	Peru	herbário	-	•	•	•
<i>Manettia cordifolia</i>	D.J.P. Gonçalves <i>et al.</i> 527 (UEC)	Brasil	sílica	•	•	-	•
<i>Manettia corticifera</i>	L.M. Renjifo 262 (MO)	Colômbia	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia cryptantha</i>	F. Alzarte 465 (MO)	Colômbia	herbário	•	•	-	•
<i>Manettia domingensis</i>	T. Clase & B. Pergueno 790 (MO)	República Dominicana	herbário	-	•	•	•
<i>Manettia dominicensis</i>	W.R. Ernst 1092 (US)	Dominica	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia echitidea</i>	B.M. Boom & J.L. Luteyn 1457 (MO)	Equador	herbário	-	•	-	-
<i>Manettia evenia</i>	J.L. Luteyn <i>et al.</i> 14425 (NY)	Equador	herbário	•	•	-	•
<i>Manettia glazioviana</i>	I.R. Andrade & L.V. Costa (BHCB 10211)	Brasil	herbário	-	•	-	•
<i>Manettia congesta</i>	JAMC 056 (UEC)	Brasil	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia glaziovii</i>	J. Paula-Souza <i>et al.</i> 5762 (UEC)	Brasil	herbário	-	•	•	•
<i>Manettia gracilis</i>	M.F.Silveira 14 (UEC)	Brasil	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia cordifolia</i>	A.V. Scatigna 114 (UEC)	Brasil	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia hispida</i>	St. G. Beck 8242 (US)	Peru	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia hotteana</i>	Prof. Marcano 5772 (NY)		herbário	•	•	-	•
<i>Manettia irwinii</i>	J.H. Kirkbride 4689 (UB)	Brasil	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia jorgensenii</i>	O. Morron <i>et al.</i> 3242 (MO)	Argentina	herbário	•	•	-	•
<i>Manettia longicalycina</i>	C. Galdanes <i>et al.</i> 3112 (MO)	Panamá	herbário	-	•	-	-
<i>Manettia longipedicellata</i>	R. Guzmán 1055 (MO)	Costa Rica	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia luteorubra</i>	Kinoshita <i>et al.</i> 2008/70 (UEC)	Brasil	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia merindensis</i>	R. Smith 10305 (MO)	Venezuela	herbário	-	-	•	•
<i>Manettia microcarpa</i>	H. Pittier 14168 (US)	Venezuela	herbário	•	•	-	-
<i>Manettia parvula</i>	J.P. Souza <i>et al.</i> 3481 (ESA)	Brasil	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia modica</i>	M.O. Dillon <i>et al.</i> 4403 (MO)	Venezuela	herbário	-	•	•	•
<i>Manettia paniculata</i>	M. & K. Weigend 2000/270 (NY)	Peru	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia pearcei</i>	St. G. Beck 30141 (LPB)	Peru	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia pectinata</i>	W. Palacios & M. Tirado (MO)	Colômbia	herbário	-	•	-	-
<i>Manettia peruviana</i>	C. Aedo & A. Galán de	Peru	herbário	•	•	•	•

	Mera 10959 (USM)						
<i>Manettia pichinchensis</i>	M. Peñafiel <i>et al.</i> 1032 (MO)	Equador	herbário	-	•	•	•
<i>Manettia poliodes</i>	E. Chiquillo 214 (USM)	Peru	herbário	•	•	-	-
<i>Manettia reclinata</i>	Sebastier D. Molino J.F. 5721 (MO)	Venezuela	herbário	-	•	•	•
<i>Manettia reclinata</i>	I. Coronado G. <i>et al.</i> 3114 (MO)	Colômbia	herbário	•	•	-	•
<i>Manettia schumanniana</i>	W. Meier 13496 (MO)	Venezuela	herbário	•	•	-	•
<i>Manettia pearcei</i>	C.A. Ridout 13047 (USM)	Bolívia	herbário	-	•	•	•
<i>Manettia secundiflora</i>	P.Acevedo-Rodriguez <i>et al.</i> 13290 (US)	Venezuela	herbário	•	•	-	•
<i>Manettia suratensis</i>	H. Garcia-Barriga 12487 (NY)	Colômbia	herbário	-	•	-	-
<i>Manettia tatei</i>	St. G. Beck & R. Seidel 22270 (LPB)	Peru	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia tenuis</i>	R.K. Brummit & D.C. Wasshausen 19423 (LPB)	Peru	herbário	•	•	•	•
<i>Manettia tenuis</i>	M. Nee & E. Chávez (NY)	Bolívia	herbário	-	•	•	•
<i>Manettia tomentulosa</i>	S. Baldeón <i>et al.</i> 3095 (USM)	Bolívia	herbário	•	•	•	-
<i>Manettia trianae</i>	G. Arbelaez S. <i>et al.</i> 1248 (NY)	Equador	herbário	-	•	-	•
<i>Manettia trianae</i>	CMG 4052 (GB)	Equador	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia umbellata</i>	F. Woytkowski 7911 (MO)		herbário	-	•	-	•
<i>Manettia umbellata</i>	I. Salinas <i>et al.</i> 797 (USM)	Peru	herbário	-	•	-	•
<i>Manettia vacillans</i>	C. Vargas C. 8975 (LPB)	Bolívia	herbário	•	•	-	•
<i>Manettia verticillata</i>	G.H. Shimizu <i>et al.</i> 550 (UEC)	Brasil	sílica	•	•	•	•
<i>Manettia weberbaueri</i>	O. Tovar 1814 (USM)	Peru	herbário	-	•	•	•

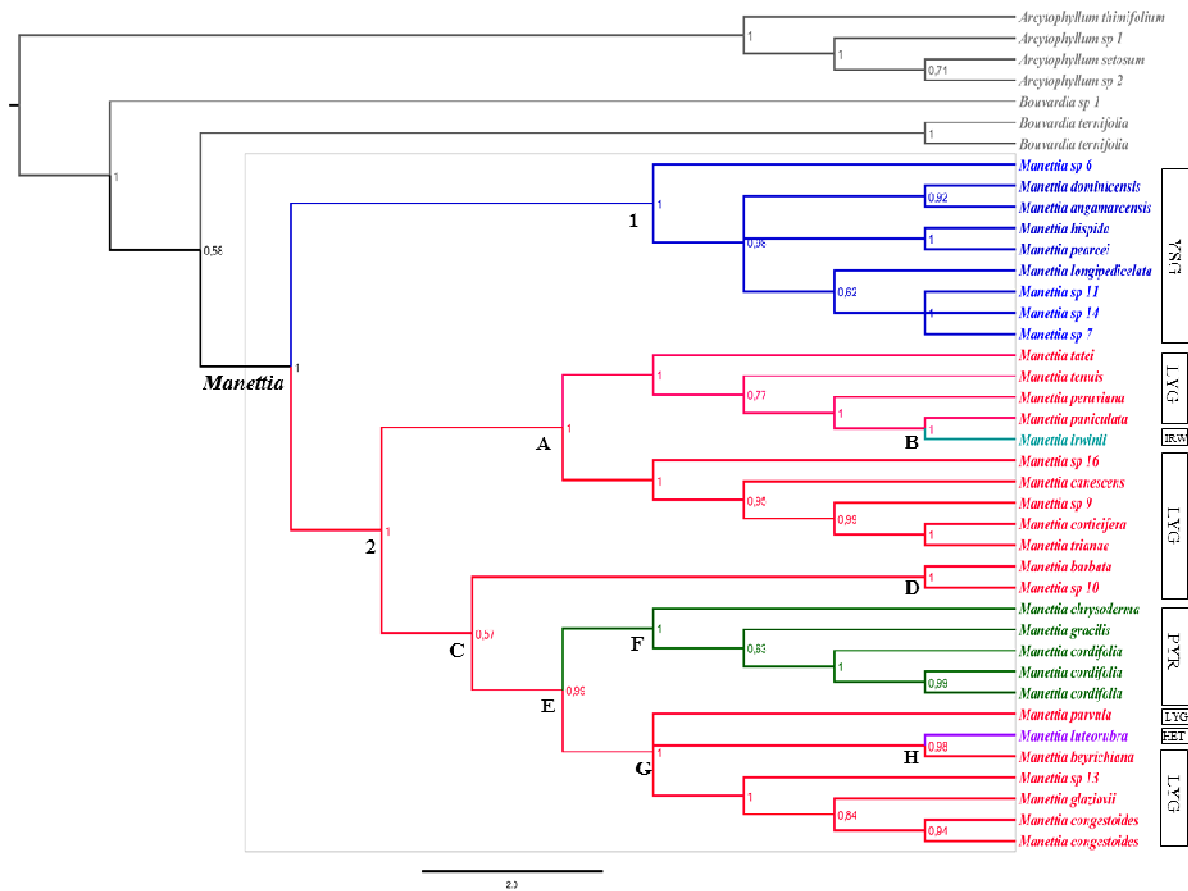


Figura 4. Árvore de consenso de maioria obtida através de Análise Bayesiana utilizando a combinação dos marcadores plastidiais *rcb1*, *rps16* e *trnL-trnF* e nuclear ITS. Os valores dos nós são dados em probabilidades posteriores. As seções estão representadas pelas seguintes cores na árvore: *Pyrrhanthos* = verde; *Heterochlora* = roxo; *Lygistum* = magenta; *Ysginanthus* = azul; *Irwinianthus* = azul claro.

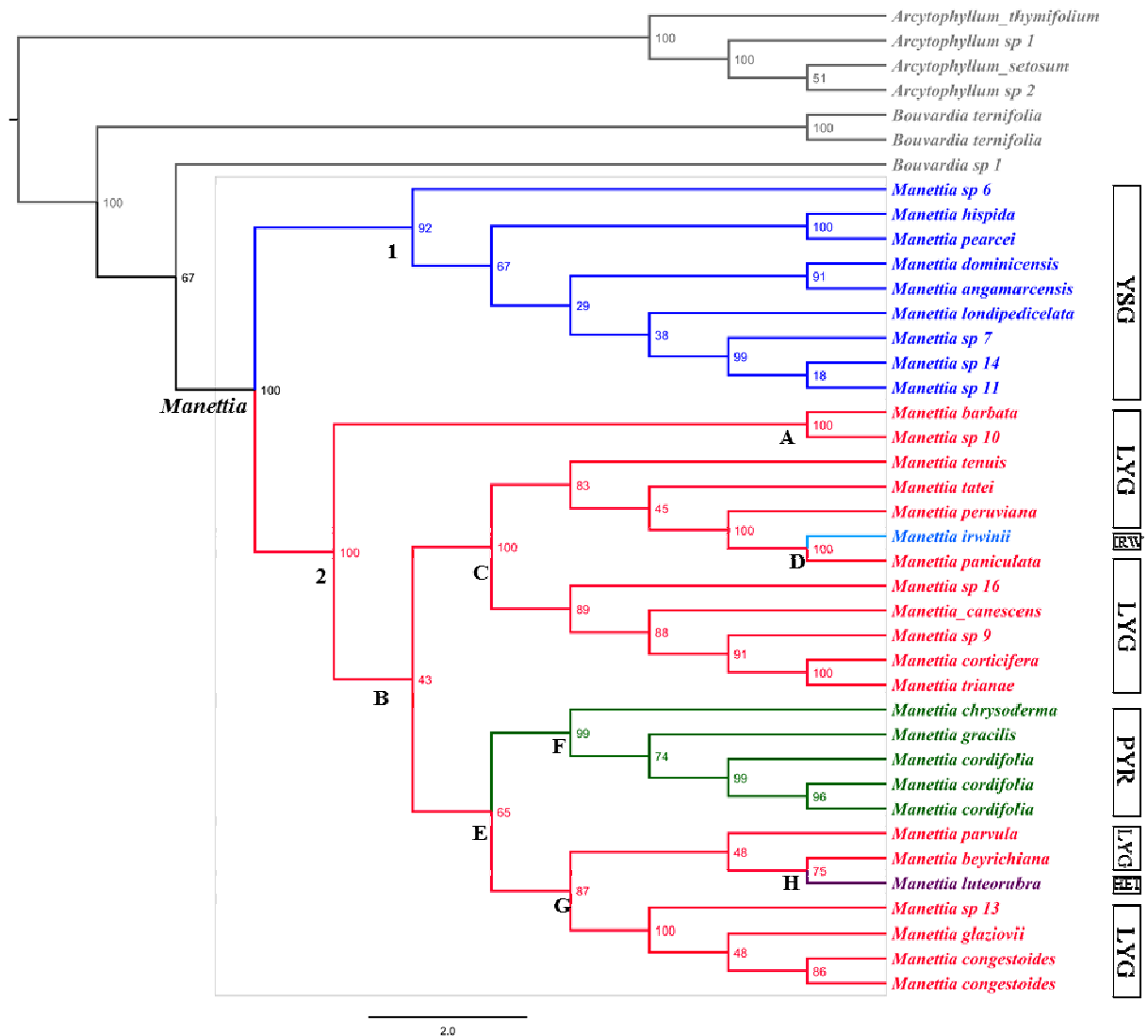


Figura 5. Árvore de maior valor de verossimilhança obtida a partir da aplicação de Máxima Verossimilhança (ML) para as espécies de *Manettia*, *Arcytophyllum* e *Bouvardia* baseada em sequências de DNA plastidial e nuclear. Os valores de *bootstrap* (>70%) baseado em 1000 réplicas. As seções estão representadas pelas seguintes cores na árvore: *Pyrrhanthos* = verde; *Heterochlora* = roxo; *Lygistum*= magenta; *Ysginanthus* = azul; *Irwinianthus* = azul claro.

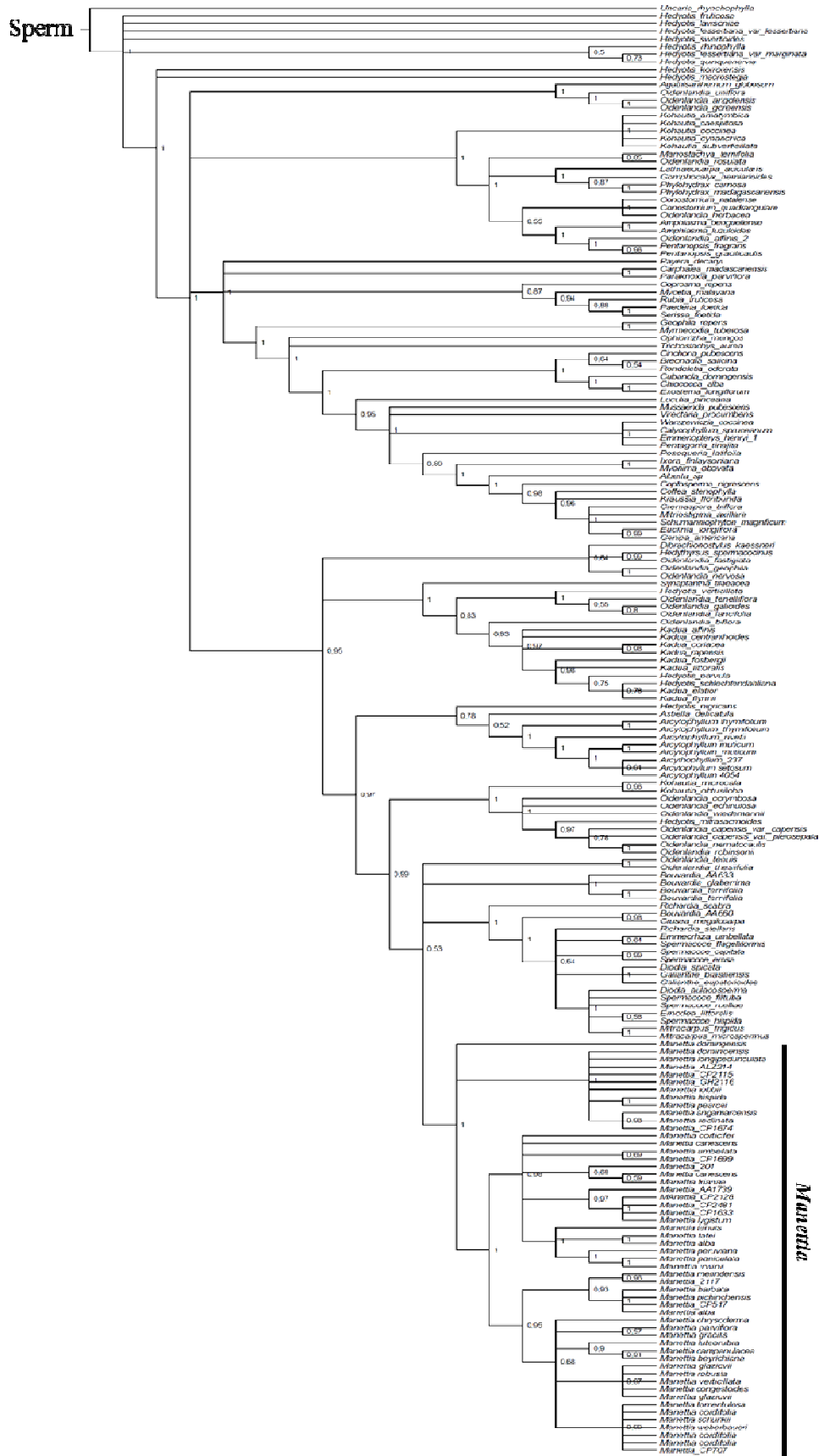


Figura 6. Árvore de consenso de maioria obtida através de Análise Bayesiana utilizando o marcador plastidial *rps16*. São utilizadas também sequências de *rps16* produzidas pelo estudo de Groeninkx *et al.* (2009). Os valores dos nós são dados em probabilidades posteriores.

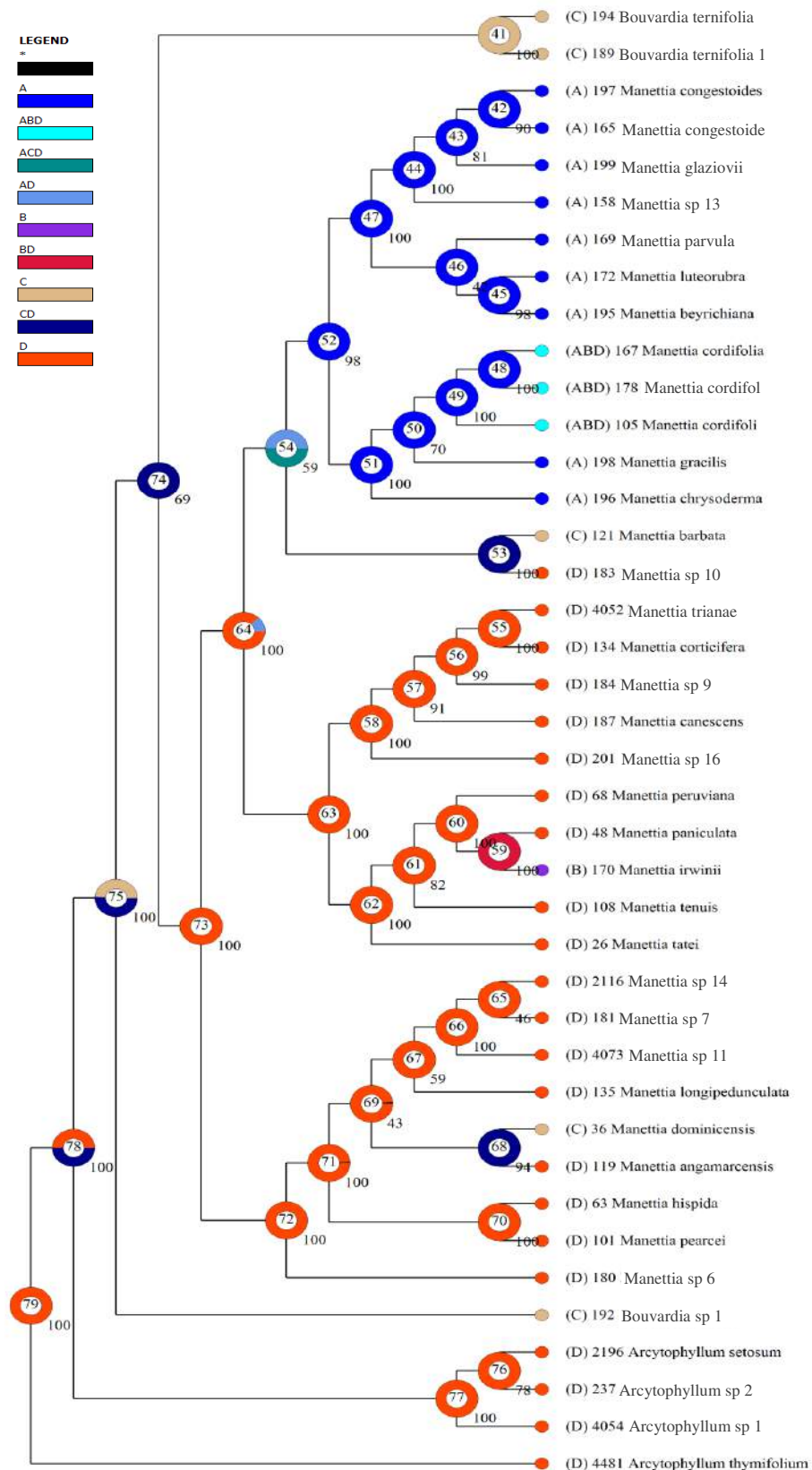


Figura 7. Inferência de área ancestral para cada nó da filogenia de *Manettia* obtida por S-DIVA (RASP). Os números ao lado dos nós se referem à PP. Na legenda, as cores representam as possíveis áreas ancestrais. (A) Mata Atlântica, (B) Cerrado, (C) América Central, (D) Andes.

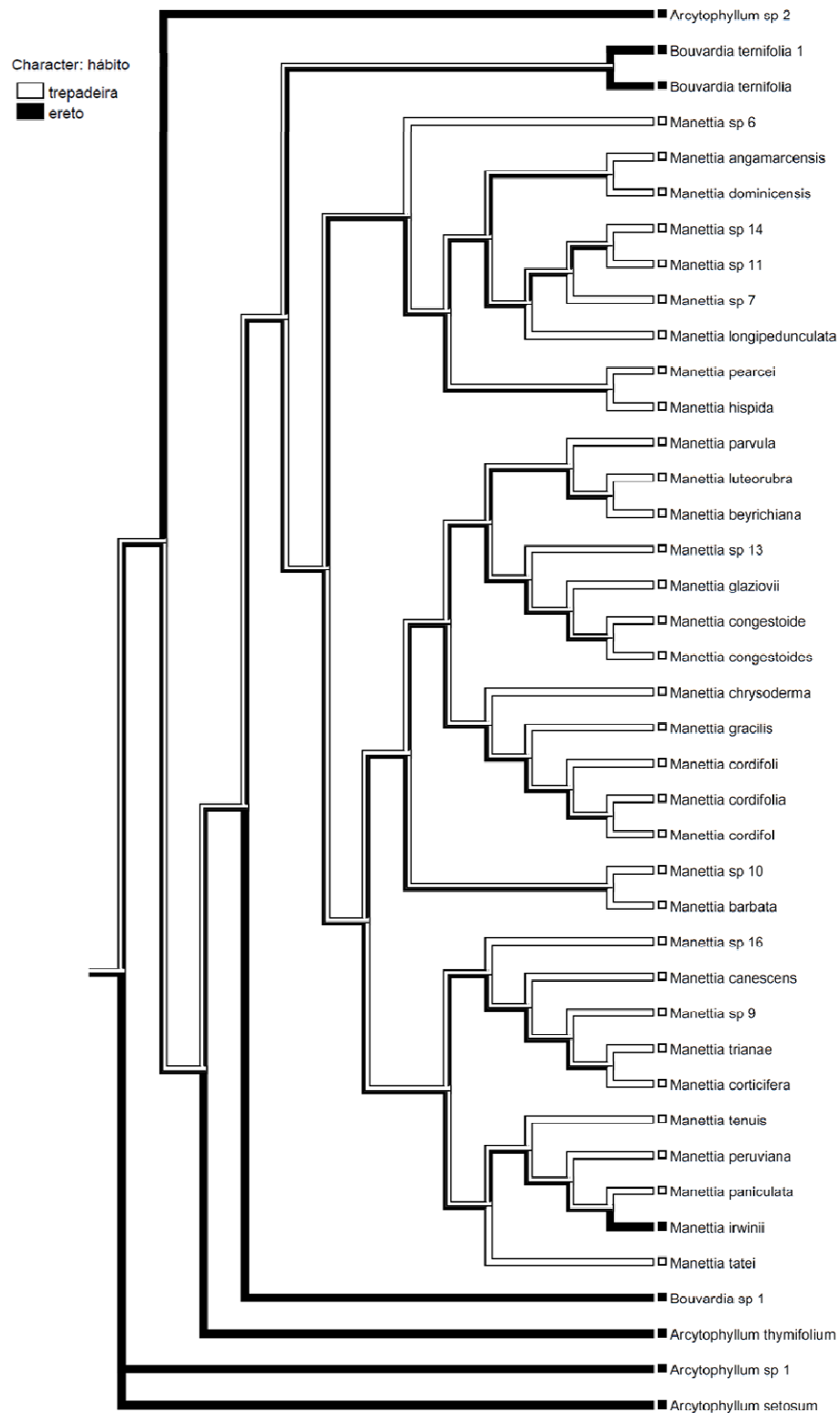


Figura 8. Reconstrução por Máxima Verossimilhança de estado ancestral de caráter morfológico hábito traçado no clado *Manettia* utilizando a árvore de consenso (Análise Bayesiana) de dados combinados. A cor dos ramos indica o estado ancestral mais provável para o caráter dado.

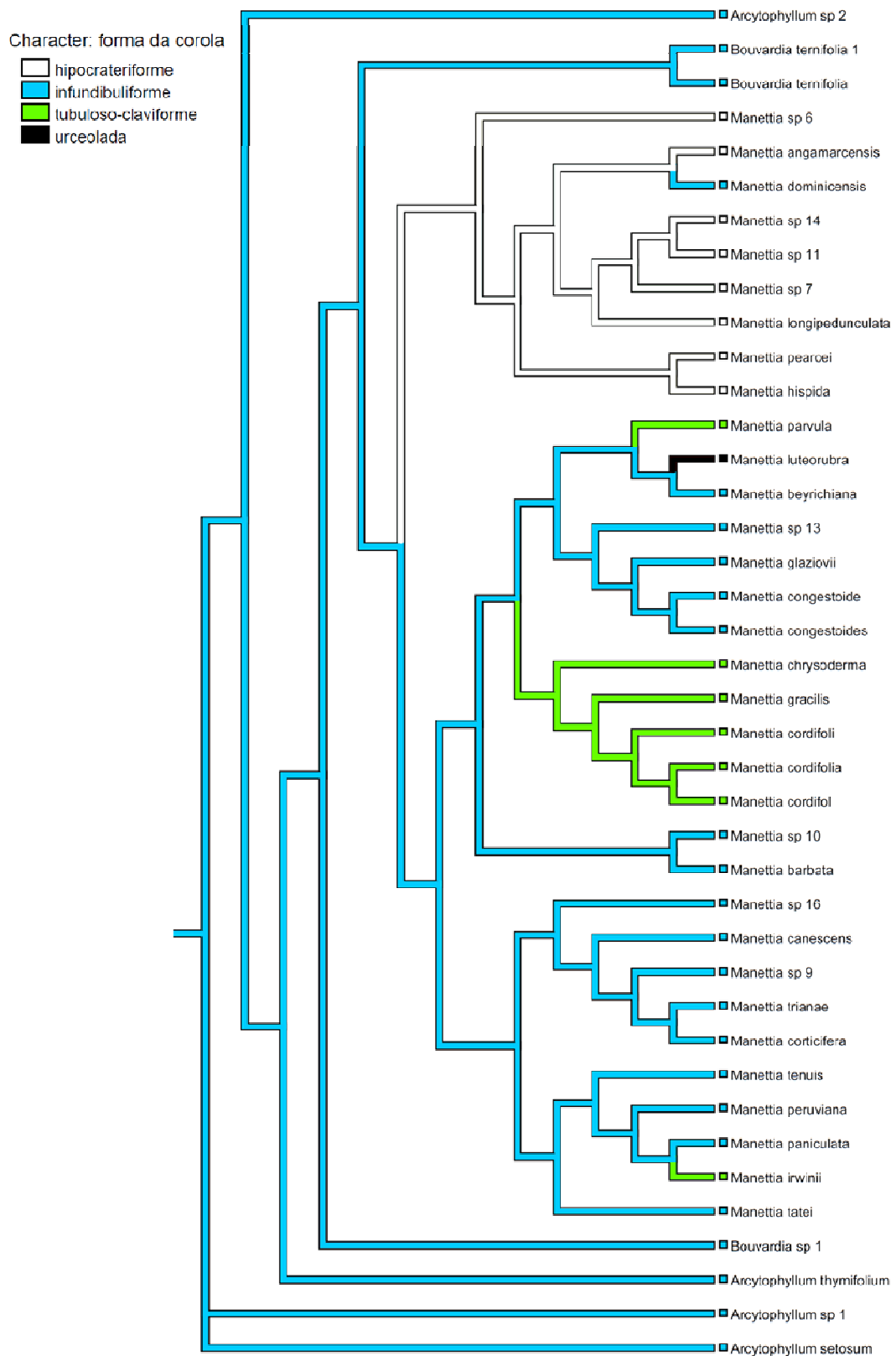


Figura 9. Reconstrução por Máxima Verossimilhança de estado ancestral de caráter morfológico forma da corola traçado no clado *Manettia* utilizando a árvore de consenso (Análise Bayesiana) de dados combinados. A cor dos ramos indica o estado ancestral mais provável para o caráter dado.

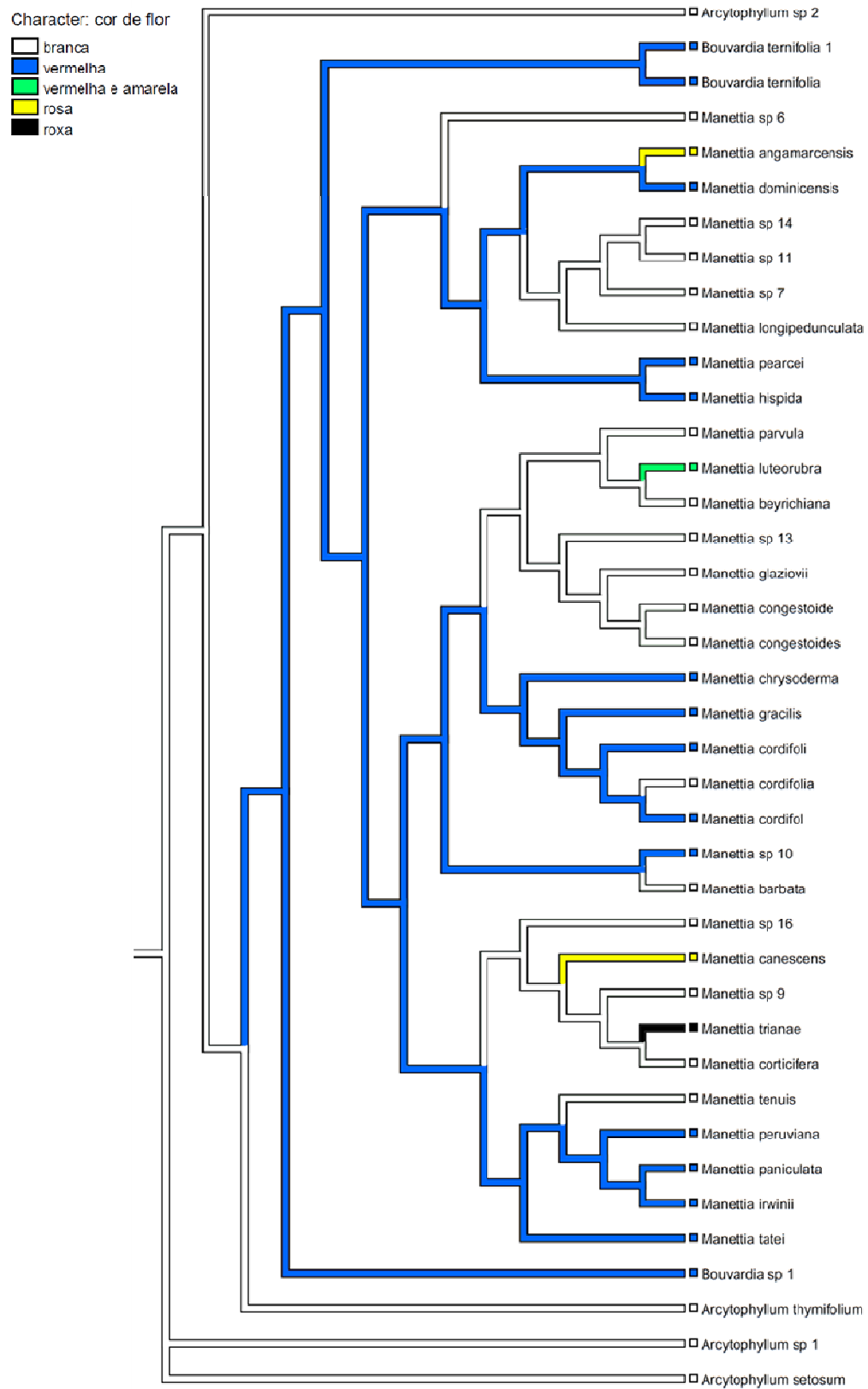


Figura 10. Reconstrução por Máxima Verossimilhança de estado ancestral de caráter morfológico cor da corola traçado no clado *Manettia* utilizando a árvore de consenso (Análise Bayesiana) de dados combinados. A cor dos ramos indica o estado ancestral mais provável para o caráter dado.

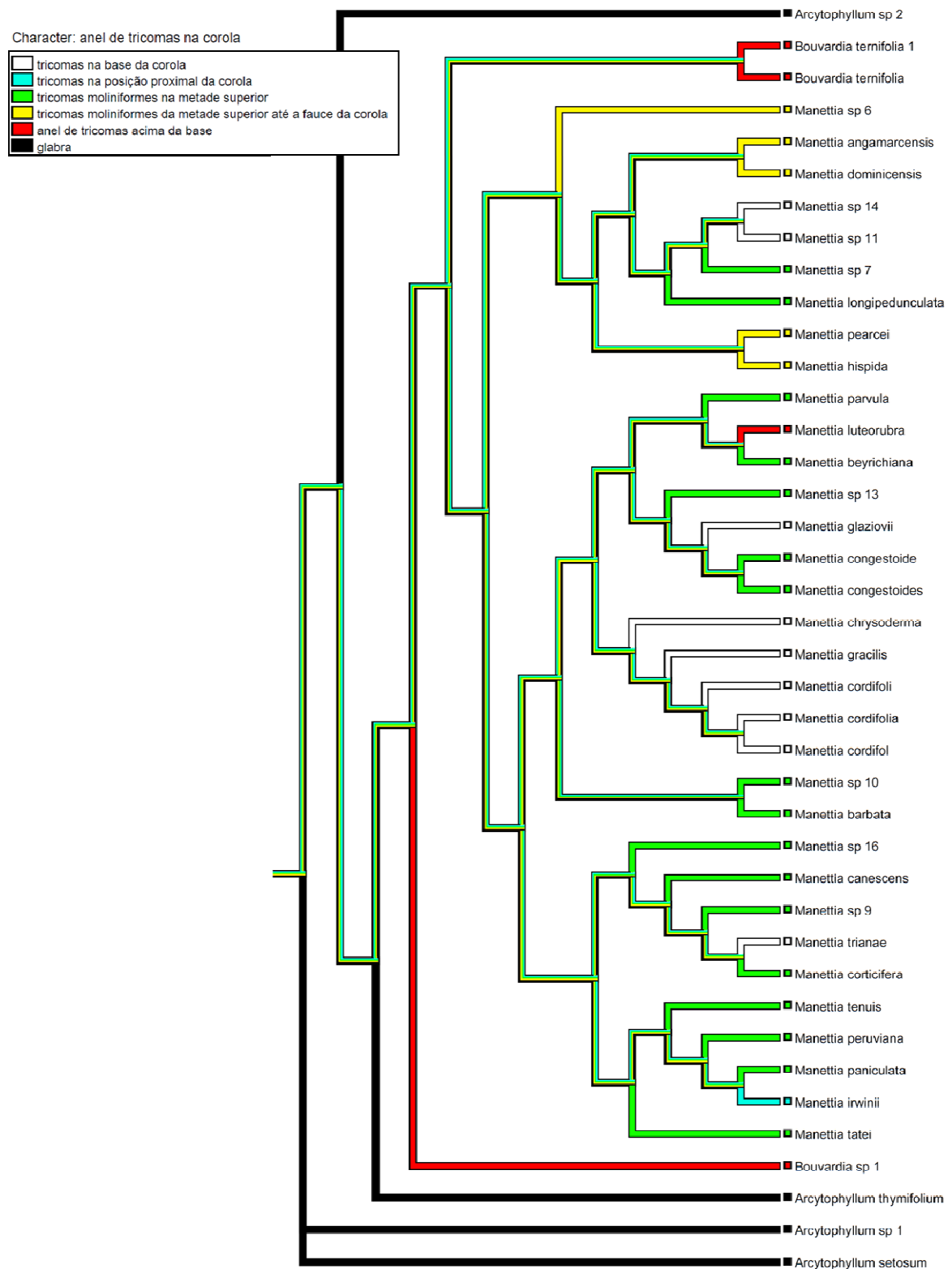


Figura 11. Reconstrução por Máxima Verossimilhança de estado ancestral de caráter morfológico tricomas na corola traçado no clado *Manettia* utilizando a árvore de consenso (Análise Bayesiana) de dados combinados. A cor dos ramos indica o estado ancestral mais provável para o caráter dado.

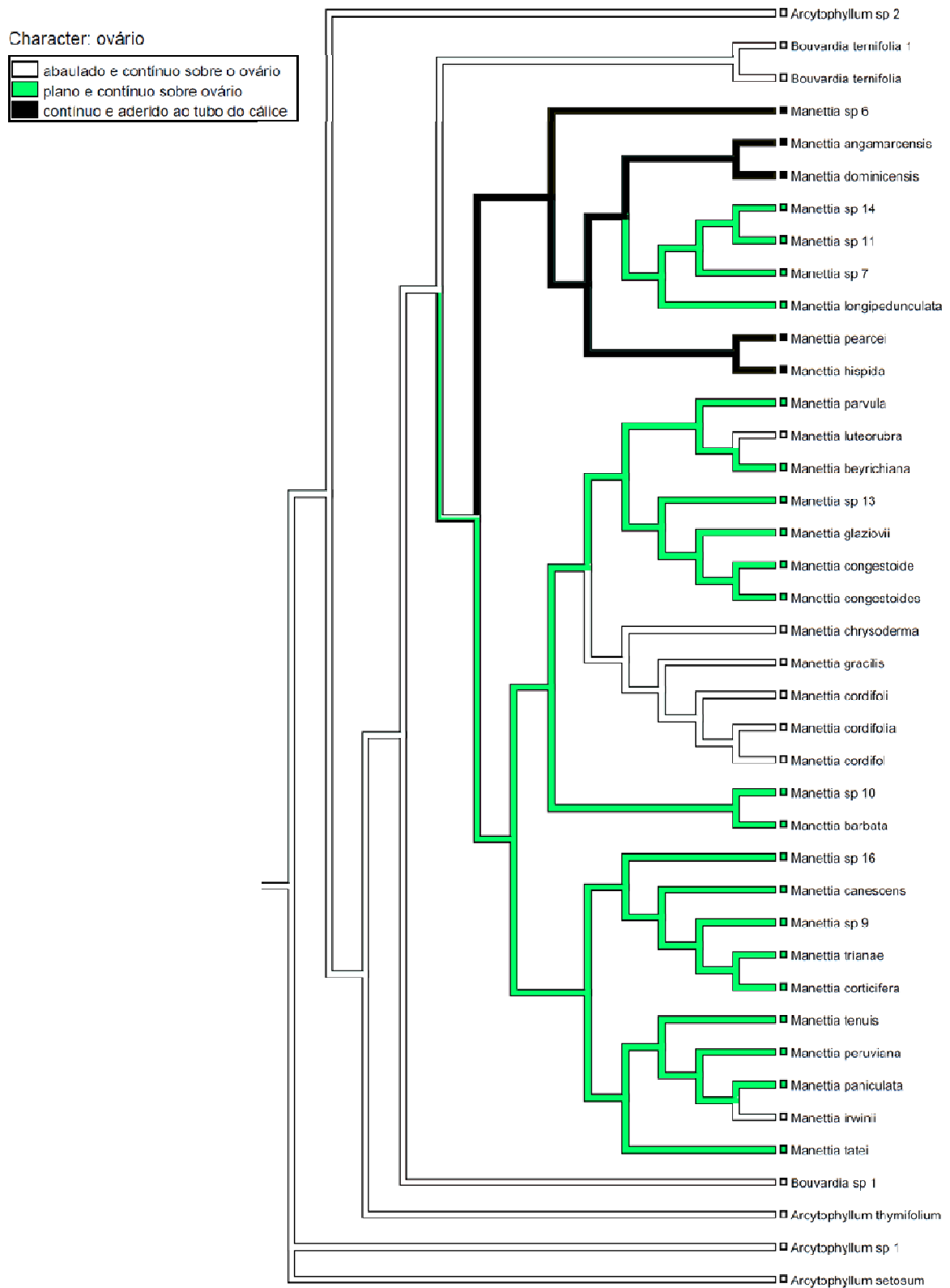


Figura 12. Reconstrução por Máxima Verossimilhança de estado ancestral de caráter morfológico ovário traçado no clado *Manettia* utilizando a árvore de consenso (Análise Bayesiana) de dados combinados. A cor dos ramos indica o estado ancestral mais provável para o caráter dado.

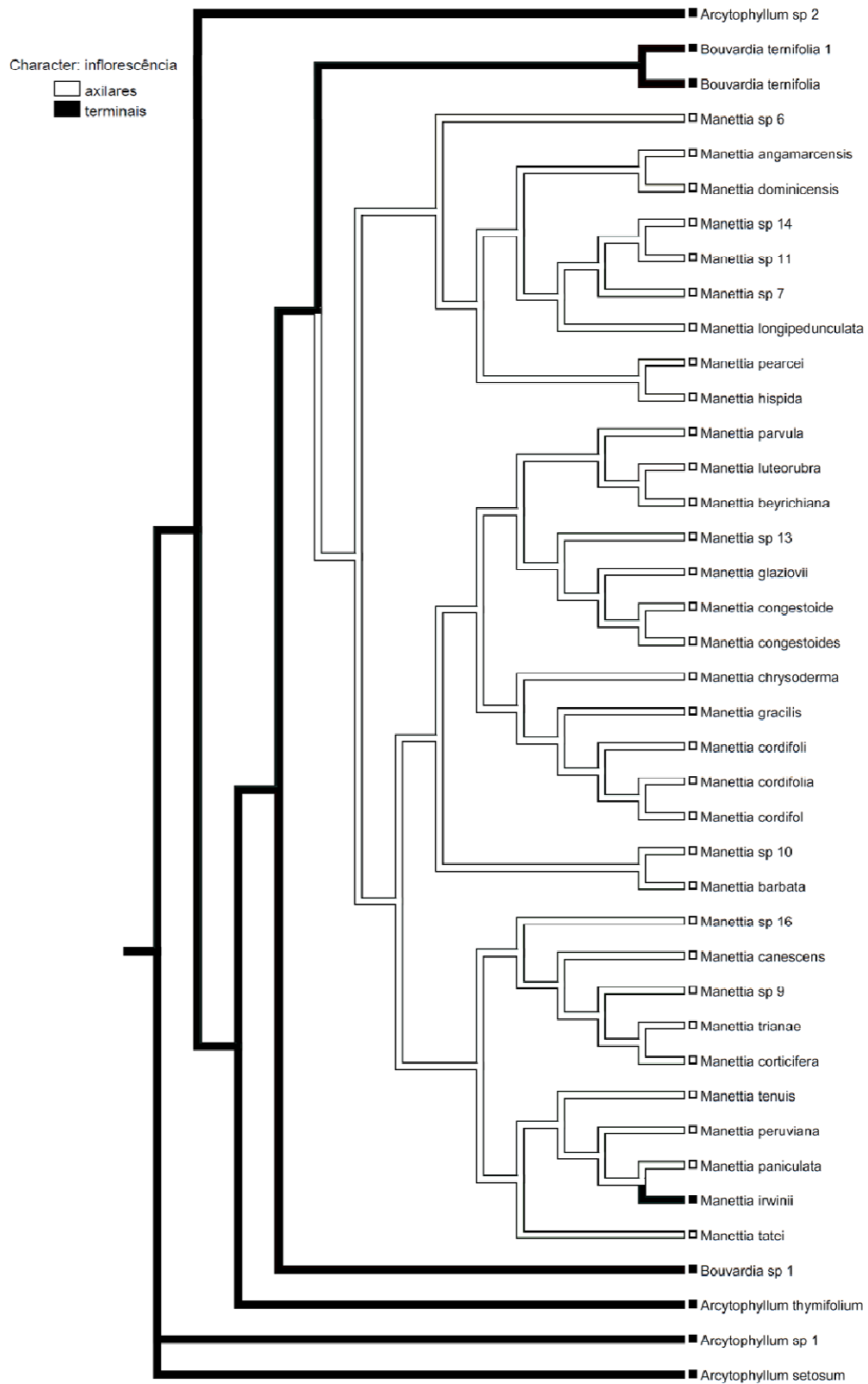


Figura 13. Reconstrução por Máxima Verossimilhança de estado ancestral de caráter morfológico inflorescência traçado no clado *Manettia* utilizando a árvore de consenso (Análise Bayesiana) de dados combinados. A cor dos ramos indica o estado ancestral mais provável para o caráter dado.

Material Complementar

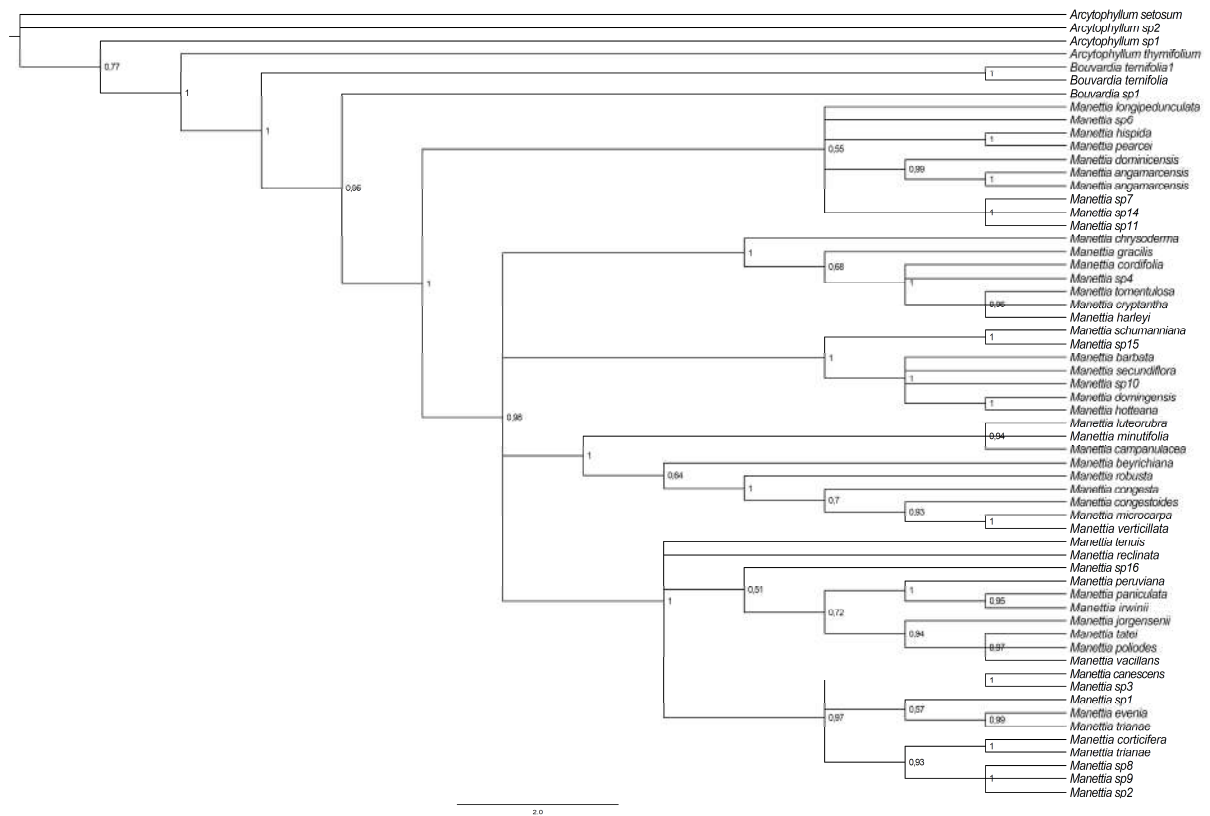


Figura 14. Árvore de consenso de maioria obtida através de Análise Bayesiana utilizando o marcador nuclear ITS para *Manettia*. Os valores dos nós são dados em probabilidades posteriores.

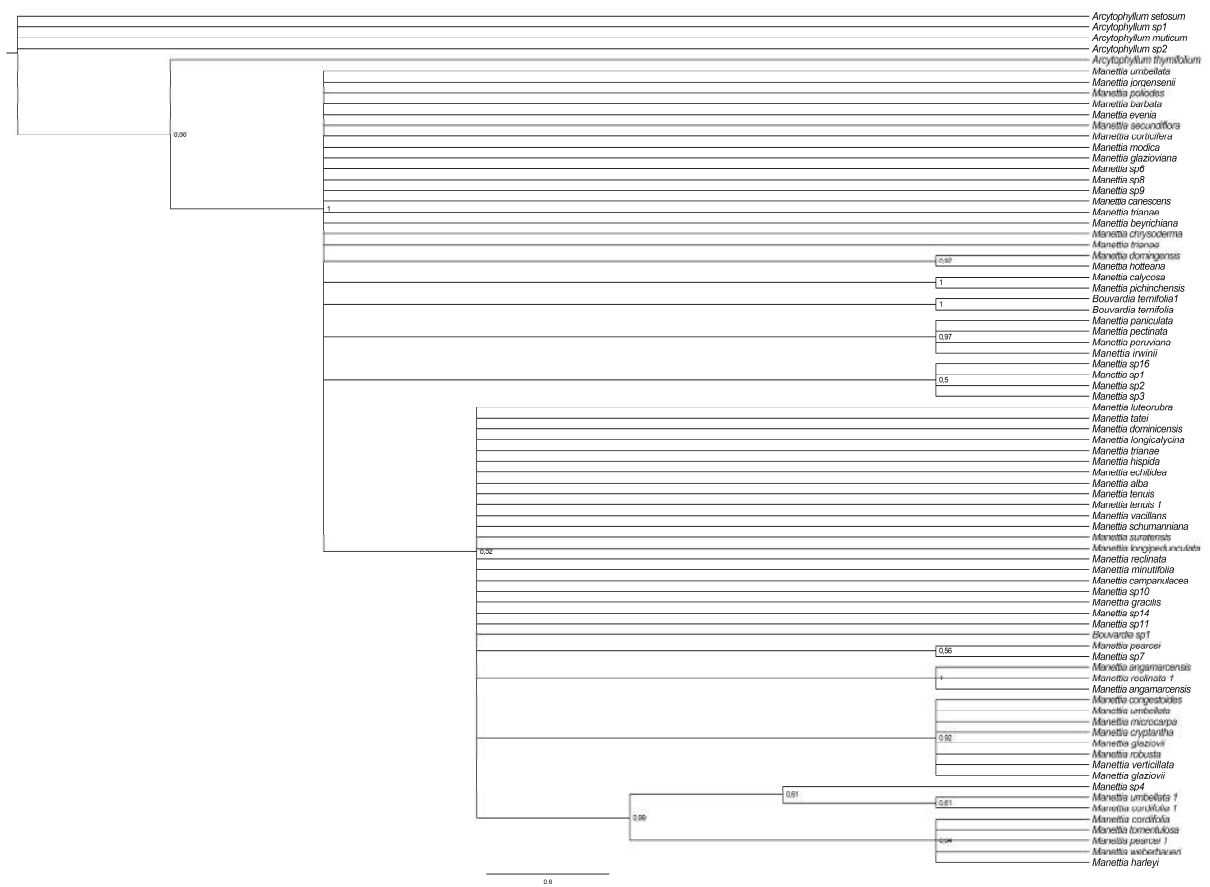


Figura 15. Árvore de consenso de maioria obtida através de Análise Bayesiana utilizando a o marcador plastidial *rbcL* para *Manettia*. Os valores dos nós são dados em probabilidades posteriores.

Figura 16. Árvore de consenso de maioria obtida através de Análise Bayesiana utilizando a o marcador plastidial *rps16* para *Manettia*. Os valores dos nós são dados em probabilidades posteriores.

Figura 17. Árvore de consenso de maioria obtida através de Análise Bayesiana utilizando a o marcador plastidial *trnL-trnF* para *Manettia*. Os valores dos nós são dados em probabilidades posteriores.

CAPÍTULO 2

SINOPSE DO GÊNERO *MANETTIA* MUTIS EX L. (RUBIACEAE) PARA O BRASIL

Resumo

(Sinopse do gênero *Manettia* (Rubiaceae) para o Brasil) Este trabalho foi baseado na análise de materiais de herbário, documentações bibliográficas e coletas, revelando a ocorrência de 25 espécies do gênero *Manettia* para o Brasil. A maioria destas espécies tem distribuição no domínio da Mata Atlântica. As demais espécies são amplamente distribuídas, sendo *M. irwinii* endêmica do cerrado do Planalto Central. É fornecida chave para identificação das espécies, mapas de distribuição, ilustrações e comentários sobre distribuição geográfica e habitats.

Introdução

Manettia Mutis ex L. é um gênero de trepadeiras lenhosas ou herbáceas (apenas *M. irwinii* Steyerm. é um arbusto ereto), geralmente terrestres, ou raramente hemiepífitas ou epífitas, ocorrendo do México à Argentina, com os principais centros de diversidade nas florestas pluviais da América Central, e nas florestas nebulares andinas e florestas pluviais atlânticas da América do Sul. O último tratamento taxonômico do gênero foi publicado por Wernham (1918, 1919) que reconheceu 81 espécies. Porém, segundo Andersson (1992), há 123 espécies para o gênero.

O gênero foi descrito por Mutis e publicado por Linnaeus em 1771. Porém sua história começou alguns anos antes quando Browne (1756) descreveu e ilustrou o gênero *Lygistum*, cuja espécie em questão foi publicada como *Lygistum flexile fruticosum, foliis ovatis oppositis, petiolis pedatis, racemis alaribus* P. Browne, a qual hoje corresponde a *Manettia lygistum* (L.) Sw.

Linnaeus poderia ter atribuído um epíteto específico a *Lygistum* P. Browne. Entretanto, ao invés disso, renominou-o como *Petesia* (*Petesia lygistum* L.). Além disso, em 1771, reconheceu a descrição de *Manettia* feita por Mutis e descreveu uma planta mexicana, *Manettia reclinata*, que veio a ser a espécie típica do gênero.

Em estrito acordo com as regras de nomenclatura, *Lygistum* seria o nome correto, porém, a conservação do nome *Manettia* foi proposta por Wernham (1918) e aceita, em

decorrência de ser mais estabelecido. Tanto *Lygistum* como *Petesia* passaram à lista de sinônimos de *Manettia*.

Manettia é essencialmente um gênero de áreas tropicais da América (Wernham, 1918). De acordo com o autor, das 80 espécies, cinco são endêmicas de zonas temperadas e vão até o Trópico de Capricórnio. *Manettia cordifolia*, com ampla distribuição nos trópicos da América do Sul, é encontrada também na Argentina e Paraguai, por exemplo. *Manettia reclinata*, por outro lado, é essencialmente uma espécie ocidental, sendo encontrada do México, através da América Central, Antilhas e Trinidad até a Guiana Francesa (Wernham, 1918).

O continente sul-americano é onde se encontra a grande maioria das espécies, e neste ocorrendo em duas áreas principais de distribuição: O oeste da América do Sul – incluindo Colômbia, oeste da Venezuela, Equador, Peru e Bolívia e, Leste tropical da América do Sul – incluindo a costa leste do Brasil, do Ceará até o norte de São Paulo, e a parte tropical do Paraguai. Ao lado dessas, há duas áreas menores de distribuição: Norte – incluindo o leste da Venezuela, Trinidad e Guiana e a zona temperada da América do Sul – incluindo o sudeste do Paraguai, sul do Brasil, Uruguai e norte da Argentina (Wernham, 1918).

O presente trabalho teve como objetivos o levantamento das espécies de *Manettia* como contribuição ao conhecimento da composição e diversidade florística do Brasil, além de rever e atualizar as identificações dos materiais depositados nos principais herbários brasileiros e estrangeiros.

Material e Métodos

Este tratamento é baseado inteiramente na análise de material de herbário. Foram examinados os herbários K, P, S, GB, BR, R, RB, MBM, UEC, SP, SPF, INPA, NY, MO, US, AAU, F, HUEFS, CEPEC, ESAL, BHCB, UPCB (acrônimos de acordo com Thiers, continuously updated).

Resultados

***Manettia* Mutis ex Linnaeus**

Manettia reclinata Linnaeus, Mantissa Plantarum II: 553-554, 558. 1771.

Tipo: Brasil, Pará, Estrada Oriximiná-Cachoeira Trombetas (BR-163), ca. 75 km north of Oriximiná, 03 jun 1980, fl, C. Davidson 10030 (INPA).

Lygistum P. Browne, The History of Jamaica 142-143, t.3, f.2, 1756.

Petesia Linnaeus, Systema Naturae, Tomus 2, 10 ed., 894. 1759 ex parte, nec P. Browne.

Nacibea Aublet, Historie des Plantes de la Guiane Française. Vol. 2:95-98, t.37, 1775.

Nacibeeae Poir., Encycl. Suppl. 4: 55. 1816.

Bellardia Schreber, Genera Plantarum 1:790. 1789.

Guanegbina Velloso, Flora Fluminensis, Archivos do Museu Nacional 44-46. Flora Fluminensis, Archivos do Museu Nacional Ic. tt. 115-121. 1829.

Conotrichia A. Richard, Memoire sur la famille des Rubiacées 197. Mem. Soc. Hist. Nat. Paris 5:227, pl. 24. 1830.

Vanessa Raf., Fl. Tellur. 3:57. 1836.

Endolasia Turcz., Bull. Soc. Nat. Moscou 21 (1): 579. 1848.

Trepadeiras delgadas, sublenhosas a lenhosas, lianas, epífitas, hemiepífitas a pequenos arbustos eretos, pilosas ou glabras, caule circular a tetragonal, entrenós de ramos principais geralmente mais longos que os dos ramos secundários. Estípulas interpeciolares, triangulares, invaginantes com ou sem coléteres nas margens; pecíolo presente ou ausente; lâmina foliar de forma variada, membranácea a crassa, ápice agudo a acuminado, base aguda a cordada; nervuras hifódromas, nervuras secundárias, geralmente, 7 por lado, concolor ou discolor. Inflorescência axilar (exceto em *M. irwinii*), tirsoide, com variações de dicásio composto modificado a cimeira unípara a pseudofascículo ou flor isolada. Flores 4-5-meras, bissexuadas, diclamídeas, distílicas ou homostílicas; cálice 4-8 lobos, lineares, subulados, lanceolados, triangulares a ovados; corola cilíndrica, hipocrateriforme a infundibuliforme (raro urceolada), tubuloso-claviforme, urceolada, prefloração valvar, pilosa ou glabra, lobos 4(-5), forma variada, patentes ou reflexos; estames 4, isostêmones ou heterostêmones, epipétalos, sésseis, subsésseis, a arredondado, glabro a piloso, óvulos numerosos por lóculo, imbricados; estiletos inclusos a exsertos, estigma bifido, espatulado, claviforme, área estigmática papilosa. Fruto seco, capsular, glabro ou piloso, oblongo, ovoide a arredondado, achatado dorsiventralmente ou não, curto a longo-pedunculado, deiscência septicida; sementes aladas, oblongas a arredondadas, numerosas.

Etimologia: Saviero (Xavier) Manetti (1723-1785) foi diretor do Jardim Botânico de Florença e trabalhou na introdução do sistema lineano na Itália.

Chave para as espécies de *Manettia*

1. Hábito ereto, inflorescência terminal.....*M. irwinii*
1. Hábito trepador, inflorescência axilar.....2
 2. Corola tubuloso-claviforme.....3
 2. Corola hipocrateriforme ou infundibuliforme.....8
 3. Pedicelo capilar e lacínias do cálice curtamente caudadas.....*M. gracilis*
 3. Pedicelo não capilar e lacínias do cálice não curtamente caudadas.....4
 4. Corola externamente glabra.....*M. paranensis*
 4. Corola externamente pilosa.....5
 5. Inflorescências em dicásios bracteosos6
 5. Inflorescências em dicásios folhosos.....7
 6. Dicásio cincinal com prófilos peciolados.....*M. chrysoderma*
 6. Dicásio não cincinal com prófilos sésseis.....*M. cordifolia*
 7. Lacínias do cálice de lineares a subuladas.....*M. pubescens*
 7. Lacínias do cálice lanceoladas.....*M. tweediana*
8. Nectário em forma de anel aderido ao hipanto.....9
8. Nectário em forma de disco sobre o ovário.....12
 9. Botão floral com ápice capitado.....10
 9. Botão floral com ápice agudo ou obtuso.....11
 10. Ápice do botão acentuadamente capitado; distribuição geográfica do paralelo 15°
.....*M. reclinata*
 10. Ápice do botão apenas capitado; distribuição geográfica abaixo do paralelo 20°.....
.....*M. fimbriata*
 11. Lacínias do cálice orbiculiformes.....*M. glazioviana*
 11. Lacínias do cálice ovado-oblongas.....*M. mitis*
 12. Base do interior do tubo da corola com coroa de tricomas.....13
 12. Base do interior do tubo da corola glabra.....16
 13. Corola tubulosa com lobos patentes.....*M. paraguariensis*

13. Corola tubulosa com lobos reflexos.....	14
14. Corola crassa; lacínias do cálice de lineares a linear-lanceoladas.....	<i>M. pedunculata</i>
14. Corola membranácea; lacínias do cálice com outras formas.....	15
15. Corola hipocrateriforme, inteiramente vermelha.....	<i>M. campanulacea</i>
15. Corola tubulosa, vermelha com região apical amarela.....	<i>M. luteorubra</i>
16. Inflorescências dicasiais reduzidas a pseudo-fascículos.....	17
16. Inflorescências dicasiais frondosas.....	21
17. Lacínias do cálice triangulares.....	18
17. Lacínias do cálice não triangulares.....	19
18. Fruto angusto-oblongo.....	<i>M. verticillata</i>
18. Fruto globoso.....	<i>M. parvula</i>
19. Lacínias do cálice de linear-lanceoladas à subuladas; corola com pilosidade serícea.....	<i>M. glaziovii</i>
19. Lacínias do cálice elípticas; corola pubescente.....	20
20. Folhas com venação camptódroma reticulódroma.....	<i>M. congesta</i>
20. Folhas com venação camptódroma não reticulódroma.....	<i>M. congestoides</i>
21. Tubo da corola menor que 3 mm compr., com distribuição geográfica acima da linha do Equador.....	<i>M. alba</i>
21. Tubo da corola maior que 5 mm compr., com distribuição geográfica abaixo da latitude 18°.....	22
22. Botão floral cilíndrico, com ápice obtuso e distribuição no Brasil (ES, RJ e SP).....	<i>M. beyrichiana</i>
22. Botão floral capitado.....	23
23. Ápice do botão floral achatado.....	<i>M. pauciflora</i>
23. Ápice do botão floral agudo.....	24
24. Corola urceolada.....	<i>M. rojasiana</i>
24. Corola hipocrateriforme.....	<i>M. riedelii</i>

(A espécie nova será incluída na sinopse, assim que o artigo for aceito para publicação).

1. ***Manettia alba*** (Aubl.) Wernh., J. Bot. 57 (Suppl): 29. 1919.

Tipo: GUIANA FRANCESA, les bords de la crique des Galibis, Mai (fl., fr.) *F. Aublet s.n.* (Holótipo P!, Isótipo BM!).

Nacibea alba Aublet, Hist. Pl. Gui. Franç. Tab. 37, fig. 2, 98. 1775.

Espécie da Amazônia Oriental, compreendendo Guiana, Suriname, Guiana Francesa e Brasil. No Brasil, é encontrada nos estados do Pará e Amapá (Fig. 2), em florestas altomontanas ou baixo montanas de 300-1220 m, florescendo e frutificando o ano todo.

A folha possui nervuras secundárias muito marcantes, caráter que lembra muito a espécie caribenha *M. lygistum*. Em algumas plantas o dicásio é bastante reduzido, em outras, o número de flores é bem expressivo. As flores são verde claras a brancas, e as sementes possuem as bordas das alas acentuadamente reentrantes.

Material selecionado: BRASIL. AMAPÁ: Macapá, Serra do Navio, 18. III. 1962 (fl, fr), J. Mattos 10201 & N. Mattos (HAS, PEL); Rio Araguari, 2°13'N – 51°58'W, 3. IX. 1961 (fl, fr), J. Murça Pires, W. Rodrigues & G.C. Irvine 50700 (IAN, MG, MO, NY, S); Rio Ingarari, 2°13'N – 51°58'W, 15. IX. 1960 (fl, fr), H.S. Irwin, J. Murça Pires & L.Y.Th. Westra 48272 (NY, RB). PARÁ: Igarapé Açu, 6. II. 1903 (fl), R. Siqueira 3340 (F, RB); Serra da Arumanduba, 24. VI. 1961 (fr), W.A. Egler & H.S. Irwin 45964a (NY).

2. ***Manettia beyrichiana*** K. Schum., Fl. Bras. 6 (6): 181. 1889.

Tipo: In provincia Rio de Janeiro prope metropolim imperii, s. data, *Beyrich s.n.* (Holótipo: B, foto: G! IAN! MO!).

Fig. 7 A-D

Espécie encontrada nos estados do Rio de Janeiro, Espírito Santo e São Paulo. Encontrada na borda de mata, Mata Atlântica (Fig. 3). Floresce e frutifica o ano todo.

Manettia beyrichiana se diferencia por apresentar inflorescência do tipo laxa. As flores apresentam-se de brancas à lilases, e possuem suave perfume de jasmim. As folhas, em material vivo, apresentam as margens lisas, porém depois de herborizadas se tornam revolutas. Além disso, as folhas podem apresentar engrossamento do mesofilo dependendo do hábitat.

Material selecionado: BRASIL. ESPÍRITO SANTO: Santa Teresa, Santa Lúcia, 12. VI. 1984 (fl), W.A. Hoffmann 141 (PEL). RIO DE JANEIRO: Nova Friburgo, Reserva Ecológica de Macaé de Cima, Nascente do Rio das Flores, 15. VII. 1989 (fl, fr), I.A. Araújo 37 (RB). SÃO PAULO: São Paulo, Parque Estadual da Serra do Mar, Núcleo Curucutu, 13. VI. 2001 (fl), F.M Souza, A.R. Duarte, D. Sampaio, R. Bernhardt, R.R. Rodrigues, V.C. Souza, J.Y. Tamashiro, S. Gandolfi, J.P. Souza, N.M. Ivanauskas, E. Furlan 125 (UEC).

3. *Manettia campanulacea* Standl., Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 8 (5): 327-328. 1931. Tipo: Brasil. Minas Gerais, São Gabriel; 1816-21 (fl.), A. Saint-Hilaire BI-42 (Holótipo: P!, Isótipo: P!, fragmento: F!).

Fig. 7 E-G

Encontrada no Brasil nos estados de Minas Gerais e São Paulo, em ambientes perturbados, Mata Atlântica. É conhecida apenas para Minas Gerais, porém foi recoletada em 1995 no estado de São Paulo (Fig. 3). Esta coleta foi realizada em abril e a planta possuía flor e fruto.

Manettia campanulacea é próxima de *M. pedunculata* por possuir caule tetragonal e ciliado. As flores estão reunidas em dicásios folhosos. As flores possuem lacínias do cálice linear-atenuadas a subuladas e eretas. A corola é vermelha e membranácea. O nectário está localizado acima do ovário circundando a base do estilete tem a forma de um anel descontínuo, formado por pequenas elevações, enquanto que nas demais espécies o anel é contínuo.

Material selecionado: BRASIL. MINAS GERAIS: São Gabriel; 1816-21 (fl, fr), A. Saint-Hilaire BI-42 (P, F). SÃO PAULO: São José dos Campos, distrito de São Francisco Xavier, caminho para Cachoeira das Couves, 22°53'54''S – 45°57'53''W; 14. VI. 1995 (fl, fr), J.Y. Tamashiro, N. Yvanasukas, J.P. Souza, P.H. Myiagi, R. Belinello & G.D. Fernandes 895 (ESA, UEC).

4. *Manettia chrysoderma* Sprague, Bull. Herb. Boissier 5: 264. 1905.

Tipo: Brasil. Santa Catarina, s. data, *Mueller* 123 (Holótipo: K!).

Manettia cordifolia var. *chrysoderma* (Sprague) Chung. Phytologia 17 (5): 362-363. 1968.

Fig. 1C; 7 H-K

Espécie encontrada somente no Brasil nos estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina em borda de mata e ambientes perturbados, Mata Atlântica (Fig. 3). Floresce o ano todo, frutifica por volta de setembro e outubro.

Nas folhas mais velhas, principalmente sobre as nervuras, tanto na face inferior como na superior e no caule existem manchas vinosas, tais quais aquelas encontradas em *M. mitis*. Algumas vezes as nervuras ficam salientes e esbranquiçadas na face inferior em razão da presença de tricomas e, assim, contrastam com o restante do mesófilo. As lacínias do cálice formam um ângulo de 90° com o ovário e os coléteres são conspícuos em relação aos das outras espécies, sendo que no ápice dos vestígios das lacínias intermediárias um coléter se destaca.

Material selecionado: BRASIL. SÃO PAULO: Jundiaí, Serra do Japi, 25. X. 1989 (fl), S.G. Egler 22185 (PEL, UEC). PARANÁ: Guaratuba, Colônia Limeira, 22. X. 1971 (fl, fr), G. Hatschbach 27550 (MO, UB). SANTA CATARINA: Paulo Lopes, Bom Retiro, 21. XI. 1973 (fl), A. Bresolin 989 (R).

5. *Manettia congesta* (Vell.) K. Schum., Fl. Bras. 6 (6): 177-178. 1889.

Tipo: Ilustração de Velloso, tab. 120!

Guagnebina congesta Velloso, Fl. Flum. text. ed. Netto 1: 46. 1829.

Fig. 1A; 7 L-O

Ocorre nos estados de São Paulo e Minas Gerais, em borda de mata, Mata Atlântica (Fig. 3). Encontrada em flor e fruto de abril a julho e de outubro a dezembro.

Possui nervuras reticuladas bem marcadas entre as nervuras laterais da folha; há uma pubescência nas partes mais jovens do caule e das folhas jovens.

Material selecionado: BRASIL: SÃO PAULO: Piquete, 25. V. 1996, L. Macias, G.G. Árbocz, R. Goldenberg, I. Koch, R. Belinello 96.107 (UEC). MINAS GERAIS: Poços de Caldas, Mata da Colina, 21°50'20''S - 46°33'53''W, 21. V. 1981 (fl), J. Semir 999 (PEL, UEC).

6. *Manettia congestoides* Wernh., J. Bot. 57 (Suppl.): 34. 1919.

Tipo: Brasil. Rio de Janeiro. Serra da Estrela, *Riedel* 622 (Holótipo: K!).

Fig. 1B

Ocorre nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo, borda de mata, Mata Atlântica (Fig.3). Floresce e frutifica o ano todo.

A inflorescência é formada por um pseudo-fascículo principal. Esse pseudo-fascículo principal por sua vez, é constituído por pseudo-fascículos secundários e são formados por 2-5 flores. As flores possuem tricomas nos lobos da corola e na face interna, além de possuir odor forte em material fresco.

Material selecionado: BRASIL: MINAS GERAIS: Carangola, Serra da Araponga, Parque Estadual da Serra do Brigadeiro, 24. V. 1992 (fl, fr), L.S. Leoni 1889 (GFJP, PEL). ESPÍRITO SANTO: Conceição do Castelo, Ribeirão do Meio, 14. VI. 1985 (fl), G. Hatschbach 49404 & J.M. Silva (CEPEC, HRB). RIO DE JANEIRO: Petrópolis, antiga BR040, estrada União Indústria, Vale dos Esquilos, Morro do Falcone, 02. V. 1995 (fl, fr), L. Macias & P. Germano Filho 06-95 (NY, PEL, UEC).

7. *Manettia cordifolia* Mart., Denkschr. Königl. Akad. Wiss. München 95. 1823/1824. Tipo: Brasil. Minas Gerais, Villa Rica; *Martius s.n.* (Holótipo: M!, fotografia do holótipo M!).

Manettia cordifolia Mart. é a espécie com maior amplitude de distribuição de todo o gênero, ocorrendo desde o Peru até o Uruguai, nos mais variados tipos de ambiente (Fig. 4). Floresce e frutifica o ano todo.

É caracterizada pelas folhas geralmente cordiformes, principalmente as mais jovens, flores com corola vermelha e anteras roxas após a fecundação. É uma espécie muito plástica e heteromórfica, podendo apresentar-se, desde inteiramente glabra até incana. Os dois extremos são bem evidentes, porém, algumas vezes, o mesmo indivíduo apresenta diversas graduações. Em alguns exemplares, apenas o caule é piloso, ou só o pecíolo, ou a nervura primária ou, ainda, somente as folhas maiores dos ramos principais. A espécie apresenta heterofilia com mais frequência do que as outras do gênero, podendo também ocorrer anisofilia.

Material selecionado: BRASIL: ACRE: Cruzeiro do Sul, 24. IV. 1971, fl, G.T. Prance 12364 (F, M, NY, R, S). ALAGOAS: Traipu, 17. VII. 1980, fl, fr, G.L. Esteves 507 (IPA, PEL). BAHIA: Feira de Santana, 16. IX. 1956, fl, E. Pereira 2074 (RB). CEARÁ: Aratuba, 18. X. 1978, fl, A. Fernandes s.n (EAC, PEL). DISTRITO FEDERAL: Brasília, 30. VI. 1986, fl, fr, R.F.

Vieira 220 (NY). GOIÁS: Aragarças, 21. VI. 1966, fl, H. S. Irwin 17488 (NY, UB). MATO GROSSO: Vila Bela, 5. V. 1983, fl, L. Carreira 816 (MG, NY). MATO GROSSO DO SUL: Aquidauana, 16. V. 1970, fl, G. Hatschbach 24294 (MBM). MINAS GERAIS: Água Limpa, 2. VI. 1965, fl, S.V. Monteiro 21 (RB). PARANÁ: Campo Alegre, 18. XI. 1992, fl, J. Cordeiro 920 (MBM). PARAÍBA: Areia, 24. VII. 1972, fl, V.P. Barbosa 87 (RB). PERNAMBUCO: Brejo da Madre de Deus, 15. IX. 1973, fl, D.A. Lima 73-7487 (IPA, PEL). RIO GRANDE DO SUL: São Luiz Gonzaga, 15. IV. 1983, fl, M. Sobral 1935 (PAMG). RIO DE JANEIRO: Cabo Frio, 2. XI. 1983, fl, G. Matinelli 9785 (RB). SANTA CATARINA: Itapiranga, 4. XI. 1960, fl, R. Reitz 4174 (NY). SÃO PAULO: Americana, 11. IV. 1995, fl, M.R. Pereira-Noronha 1064 (PEL, SP).

8. *Manettia fimbriata* Cham. & Schltdl., Linnaea 4: 173.1829.

Tipo: Brasília aequinoctiali legit *Sellow*. (Holótipo: B, fotografia do holótipo G!, IAN!, MO!).

Fig. 1D

Espécie encontrada apenas na restinga do litoral norte do estado do Rio de Janeiro (Fig. 3). Encontrada fértil de janeiro a julho.

As folhas podem ser inequiláteras principalmente naquelas em que o ápice é longo-acuminado. Os coléteres estão agrupados de uma forma tal nas margens do tubo do cálice, entre as lacínias, que dão a idéia de uma microlacínia intermediária. A corola é rosada e os lobos possuem tricomas nas margens.

Material selecionado: BRASIL: RIO DE JANEIRO: Cabo Frio, 27. IV. 1983 (fl, fr), D. Araújo 5631 (UB).

9. *Manettia glazioviana* (K. Schum.) Sucre, Arq. Jar. Bot. Rio de Janeiro 17:27-28. 1963.

Tipo: Brasil. Rio de Janeiro, Tijuca, 23. II. 1869 (fl), *Glaziou* 3022 (Holótipo: P!, Isótipo: P!). *Manettia mitis* var. *glazioviana* K. Schumann, Fl. Bras. 6 (6): 185-186. 1889.

Fig. 7 P-Q

É encontrada na região sul do estado da Bahia, em Minas Gerais e principalmente na cidade do Rio de Janeiro, na borda de mata, Mata Atlântica (Fig. 5). Floresce e frutifica o ano todo.

Possui ramos finos e entrenós longos, inflorescências que são dicásios modificados frondoso-bracteosos acompanhados de mais uma flor em sua base, produzida por uma gema, e fruto elíptico.

Material selecionado: BRASIL: BAHIA: Una, Ribeirão das Palmeiras, 06. III. 1986 (fl), T.S. dos Santos, L.A. Mattos da Silva & E.J. Judziewicz 4200 (CEPEC, RB). MINAS GERAIS: Caratinga, Estação Biológica, 07. VII. 1987 (fl, fr), I.R. Andrade & L.V. Costa s.n. (BHCB, PEL). RIO DE JANEIRO: Rio de Janeiro, Pico da Tijuca, 03. II. 1971 (fl), D. Sucre 7386 (RB).

10. *Manettia glaziovii* Wernh., Journ. Bot. 57 Suppl. 18: 36. 1919.

Tipo: Brasil. Rio de Janeiro. Serra do Picú ao Palmital, 12. IV. 1879 (fl, fr), A. Glaziou 10907 (Holótipo: K! Isótipo: R!).

Fig. 1E; 8 A-B

No Brasil, nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo e Paraná. Ocorre nas regiões de Mata Atlântica destes estados (Fig. 5). Floresce o ano todo e frutifica nos meses de maio a outubro.

As lacínias do cálice são heteromorfas e, dobram-se para fora por serem membranáceas. O pedicelo não apresenta aumento de comprimento, dando aspecto congesto à infrutescência. O nectário está localizado sobre o ovário o qual se apresenta como um disco plano, e por esse aspecto, diferencia-se de outras espécies que se apresentam com um disco abaulado.

Material selecionado: BRASIL: MINAS GERAIS: Itamonte, Serra da Mantiqueira, 08. X. 1982 (fl, fr), G. Hatschbach 45538 & R. Kummrow (UB). RIO DE JANEIRO: Itatiaia, estrada para o Pico das Agulhas Negras, 24. V. 1996 (fl, fr), L. Macias 96-70, R. Goldenberg, I. Koch & G. F. Árbocz (BR, NY, PEL, SP, UEC). SÃO PAULO: Piquete, estrada para São Francisco dos Campos, 25. V. 1996 (fl, fr), L. Macias 96-147, G.F. Árbocz, I. Koch & R. Goldenberg (NY, PEL, SP, UEC). PARANÁ: Morretes, estação Marumbi, 20. II. 1986 (fl, fr), J. Cordeiro 245 & J.M. Silva (BR).

11. *Manettia gracilis* Cham. & Schltdl., Linnaea 4: 169-170. 1829.

Tipo: Brasil. Minas Gerais, *Sellow 1749*. (Holótipo: B, fotografia do holótipo: G! IAN! MO! NY!).

Fig. 1F; 8 C-F

Espécie encontrada no Brasil, desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul, em borda de mata, na Mata Atlântica (Fig. 3). Floresce e frutifica o ano todo.

O pedicelo de *M. gracilis* é capilar e as lacínias do cálice são curtamente caudadas. O ápice do botão floral é marcadamente anguloso.

Material selecionado: BRASIL: MINAS GERAIS: Delfim Moreira, São Francisco dos Campos, 06. VI. 1950 (fl, fr), E. Kühn & M. Kuhlmann 2400 (SP). RIO DE JANEIRO: Itatiaia, Parque Nacional do Itatiaia, 28. III. 1995 (fl), J.M.A. Braga 2269 & L. Macias (PEL, RB). SÃO PAULO: São José dos Campos, caminho da Cachoeira das Couves, 14. IV. 1995 (fl), J.Y. Tamashiro 894, N. Ivanauskas, J.P. Souza & P.H. Myiagi (PEL, SP, UEC). PARANÁ: Bocaiúva do Sul, Bacaitava, 08. VII. 1993 (fl), G. Hatschbach 59450 & C.B. Pugliesi (MBM). SANTA CATARINA: Ibirama, Horto Florestal, 17. VII. 1956 (fl), R. Reitz & R. Klein 3401 (MBM, NY, PACA). RIO GRANDE DO SUL: Osório, Serra do Pinto, 28. VI. 1986 (fl), P. Brack s.n. (ICN).

12. *Manettia irwinii* Steyerm., Brittonia 30 (1): 36-37. 1978.

Tipo: Brasil. Goiás: steep rocky slopes 15km north of Corumbá de Goiás on road to Niquelândia, valley of Rio Corumbá, 1150 m, 17. I. 1968, H.S. Irwin, H. Maxwell & D. Wasshausen 18688 (Holótipo: UB! Isótipo: K! MBM! NY! VEN).

Espécie endêmica do cerrado, do Planalto Central do Brasil (Fig. 2). Coletada com flor em janeiro, fevereiro e novembro, e com fruto em janeiro e fevereiro.

Manettia irwinii é uma planta ereta e rizomatosa, possuindo inflorescência terminal, características estas que a diferencia de todas as outras espécies do gênero.

Material selecionado: BRASIL: DISTRITO FEDERAL: Região de Palma, 15°34'S-48°02'W, 15. II. 1982 (fl, fr), J.H. Kirkbride Jr. 4689 (BR, F, MBM, NY, RB, SP, UB). GOIÁS: Mineiros, 15. II. 1974 (fl), G. Hatschbach 34262 (MBM), Niquelândia, Serra dos Pirineus, 17. I. 1968 (fl, fr), H.S. Irwin 18688, H. Maxwell & D.C. Wasshausen (MBM).

13. *Manettia luteorubra* (Vell.) Benth., Linnaea 23: 445. 1850.

Tipo: Ilustração de Velloso tab. 121!

Guagnebina luteo-rubra Velloso, Arch. do Museu Nacional, Fl. Flum. 46, tab. 121. 1825.

Fig. 1G; 8 G-J

No Brasil, desde o Distrito Federal, Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo (Fig. 5). Floresce e frutifica o ano todo.

Possui corola tubulosa, inflada na base, vermelha até 2/3 proximal do tubo e amarela no terço final, com tricomas na face externa, ficando vermelha por inteiro quando é polinizada.

Material selecionado: BRASIL: GOIÁS: Formosa, Rio Tiquiri, 25. V. 1967 (fl), E.P. Heringer 11523 (UB). DISTRITO FEDERAL: Brasília, Área de Inundação do Rio São Bartolomeu, 05. III. 1980 (fl), E.P. Heringer, T.S. Filgueiras, R.C. Mendonça, B.A.S. Pereira, A.E. Heringer 3690 (IBGE, MG, NY, UEC). MATO GROSSO: Cuiabá, X. 1823 (fl, fr), s/leg 388 (BR). MINAS GERAIS: Poços de Caldas, 27. IV. 1976 (fl, fr), P.E. Gibbs, J. Semir & L.S. Kinoshita 1957 (UEC). ESPÍRITO SANTO: Itaguaçu, Jatibaca, 15. V. 1946 (fl), A.C. Brade, A. Barbosa & A.P. Duarte 18167 (F, RB). RIO DE JANEIRO: Teresópolis, Granja Mafre, 28. V. 1977 (fl), L. d'Á.F. Carvalho 536 (RB). SÃO PAULO: Nazaré Paulista, Estrada em torno da Represa Atibainha, 01. VI. 1996 (fl), V.C. Souza, R.R. Rodrigues, J.P. Souza, I.D. Sanches, A. Astorino, R. Magossi, M. Petrini, J.E. Tavares Jr. 11218 (UEC).

14. *Manettia mitis* (Vell.) K. Schum., in Mart. Fl. Bras. 6 (6): 185. 1889.

Tipo: Ilustração de Velloso, tab. 118!

Guagnebina mitis Velloso in Fl. Flum. 1: 45. t. 118. 1829.

Ocorre nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e Espírito Santo (Fig. 5). Floresce e frutifica o ano todo.

O caule de *M. mitis* apresenta-se geralmente verde e vinoso, principalmente próximo dos nós. As folhas têm consistência semi- crassa e bem brilhante. As flores apresentam-se brancas a rosadas.

Material selecionado: BRASIL: MINAS GERAIS: Santa Rita de Jacutinga, 24. I. 1971 (fl, fr), P.L. Krieger 9891 (RB); Tombos, Fazenda Cachoeira, 26. VII. 1935 (fr), Mello Barreto 1770 (F). ESPÍRITO SANTO: Santa Teresa, Vale dos Colibris, 17. III. 1986 (fl), H.Q. Boudet Fernandes 1903 (MBML). RIO DE JANEIRO: Nova Friburgo, Reserva de Macaé de Cima,

Hotel fazenda São João, 11. II. 2003 (fl), V.C. Souza, H. Lorenzi, L.C. Bernacci, M. Peixoto 28973 (UEC).

15. *Manettia paraguariensis* Chodat, Bull. Herb. Boissier 7: 82. 1898.

Tipo: Rivolorum Tereré, jan (fl), *Hassler 2511* (Holótipo: B).

Fig. 8 K-N

Ocorre no Brasil desde o sul de São Paulo, Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul até o Paraguai e Argentina, borda de mata, Mata Atlântica (Fig. 5). Floresce e frutifica o ano todo.

Espécie muito parecida à *M. luteorubra*, mas diferenciam-se desta por apresentar corola carnosas, lacínias pequenas e patentes, firmes e tricomas muricados pluricelulares na face externa.

Material selecionado: BRASIL: MATO GROSSO DO SUL: Margem Rio Piquiri, afluente do Rio Paraná, 30. I. 1918 (fl), A. Lutz 1426 (R). SÃO PAULO: Eldorado, Parque Estadual de Jacupiranga, 03. IX. 1995 (fl, fr), V.C. Souza, R.R. Rodrigues, F.A.R.P. Arzolla 9001 (PEL, UEC). PARANÁ: Almirante Tamandaré, 23. VIII. 1995 (fl, fr), W. Maschio 79 (MBM). SANTA CATARINA: Concórdia, Campos Novos, 10. IX. 1986 (fl, fr), J.A.F. Costa 62 (R). RIO GRANDE DO SUL: Carlos Barbosa, Rodovia para Bento Gonçalves, 05. XI. 1980 (fl, fr), J. Mattos & N. Mattos 21938 (HAS, PEL).

16. *Manettia paranensis* Standl., Field Mus. Nat. Hist., Bot. Ser. 8 (5): 331. 1931.

Tipo: Brasil. Paraná, Serra do Mar, Caiguava; 19. XI. 1909, *P. Dusén 8964* (Holótipo: S!, Isótipo G!).

Manettia cordifolia var. *paranensis* (Standley) Chung, Phytologia 17 (5): 362. 1968.

Ocorre no estado do Paraná, nas regiões altomontanas acima de 1.200 m (Fig. 5). Floresce e frutifica de novembro a janeiro.

Manettia paranensis tem as lacínias do cálice mais foliáceas dentre todas as outras espécies do gênero. Possui também os lobos da corola com formato rombiforme.

Material selecionado: BRASIL: PARANÁ: Quatro Barras, Morro Mãe Catira, 07. XI. 1966 (fl), R. Kummrow 2683 & F.J. Zelma (G, MBM); Guaratuba, Serra de Araçatuba, Morro dos Perdidos, 01. I. 2006 (fl), G.O. Romão, C.D. Rodrigues, A.P.T. Dantas 1512 (ESA).

17. *Manettia parvula* K. Schum. ex Wernh., J. Bot. 57 Suppl: 26. 1918/19.

Tipo: Brasil. Rio de Janeiro, Nova Friburgo, Alto Macaé, 13. V. 1888 (fl, fr), *Glazious 17061* (Holótipo: P! Isótipo: BR! K! NY! R!).

Coletada nos estados de São Paulo e Rio de Janeiro. Encontrada na borda de mata, Mata Atlântica (Fig. 5). Floresce e frutifica nos meses de março até maio, e também encontrada com flor em novembro.

Manettia parvula caracteriza-se pelo tamanho diminuto, principalmente, de suas folhas (8,5-25×4,5-9,5 mm) e flores. As folhas por sua vez possuem de 0-3 nervuras secundárias.

Material selecionado: BRASIL: SÃO PAULO: Biritiba Mirim, Estação Biológica de Boracéia, 23°38'–23°49'S 45°52'–45°53'W, 11. V. 1984, fl, fr; A. *Custódio Filho 2451* (PEL, SP); idem, 14. XI. 1983, fl, A. *Custódio Filho 1831* (SP); 14. I. 1984, fl, fr; A. *Custódio Filho 2174* (SP); Salesópolis, Parque Estadual da Serra do Mar, 23°38'S – 45°40'W, 25. IV. 2000, fl, fr, W. *Forster et al. 316* (UEC). RIO DE JANEIRO: Nova Friburgo, Alto Macaé, 16. III. 1891 (fl, fr), *Glazious 18294* (F, K, NY, P).

18. *Manettia pauciflora* Dusén, Arch. Mus. Nac. Rio de Janeiro 13: 27. 1905.

Tipo: Rio de Janeiro, Itatiaia, III. 1894, *E. Ule 136* (Holótipo R!, Isótipo: R!).

Fig. 9 A-D

Espécie coletada na Serra do Itatiaia, estado do Rio de Janeiro, Mata Atlântica (Fig. 5). Floresce e frutifica de março a julho.

As folhas de *Manettia pauciflora* possuem nervuras vinosas e bem destacadas em material fresco e escurecidas em material herborizado, contrastando com o mesófilo que é mais claro. Uma flor em cada axila, e flores com botão com ápice achatado.

Material selecionado: BRASIL: RIO DE JANEIRO: Itatiaia, Parque Nacional, Pico das Agulhas Negras, 29. IV. 1995 (fl, fr), J.M.A. Braga 2336 & L. Macias (BR, NY, PEL, RB).

19. *Manettia pedunculata* (Spreng.) K. Schum., Fl. Bras. 6 (6): 173-174. 1889.

Lectotipo: Brasil. Australi locis haud accuratis indicatis, 1860 (fl, fr), *Freire Allemão* (Lectotipo G!, aqui designado).

Diodia pedunculata Sprengel, Syst. Veg. 1: 405. 1825.

Coletada no Rio de Janeiro, Mata Atlântica (Fig. 5). Encontrada com flor ou fruto de maio a julho.

Manettia pedunculata possui pecíolo ciliado. É uma espécie semelhante à *M. luteorubra* no que se refere à flor e parecida com *M. campanulacea* no que tange a parte vegetativa, pela estrutura quadrangular e alada do caule e pelos cílios do pecíolo.

Material selecionado: BRASIL: RIO DE JANEIRO: Três Rios, Fazenda Santa Fé, 30. V. 1961 (fl, fr), A.P. Duarte 5860 (PEL, RB).

20. *Manettia pubescens* Cham. & Schltdl., Linnaea 4: 170-172. 1829.

Tipo: Locis haud accuratis addlectis Brasilia meridional, 1814-1831, *F. Sellow s.n.* (Holótipo: HAL). Fig. 1H; 9 E-H

Encontrada apenas no Brasil, desde Minas Gerais até o Rio Grande do Sul, Mata Atlântica e cerrado (Fig. 5). Floresce e frutifica o ano todo.

Manettia pubescens possui corola vermelha e pubescente na face externa e fruto também pubescente.

Material selecionado: BRASIL: MINAS GERAIS: Conceição de Ibitipoca, 19. V. 1991, (fl), F.R. Salimena 24665 (IAC). SÃO PAULO: Campos do Jordão, Horto Florestal, 20. IX. 1991 (fl, fr), S. Buzato & M. Sazima 26863 (UEC). PARANÁ: São José da Boa Vista, Rio Jaguariaíva, Corredeira Paulista, 19. XII. 1970 (fl, fr), G. Hatschbach 25567 (MBM, NY, S, UPCB). SANTA CATARINA: Praia Grande, Vila Rosa, 26. VIII. 1978 (fl, fr), J. Waechter 931 (ICN). RIO GRANDE DO SUL: Torres, 01. VI. 1983 (fl), M. Sobral 2125 (F, MBM).

21. *Manettia reclinata* Mutis ex L., Mantissa 558. 1771.

Tipo: Brasil, Pará, Estrada Oriximiná-Cachoeira Trombetas (BR-163), ca. 75 km north of Oriximiná, 03. VI. 1980, fl, *C. Davidson 10030* (Neotipo: INPA, aqui designado).

Manettia coccinea (Aubl.) Willd., Sp. Pl. Editio quarta 1: 624. 1797, *syn. nov.*

Encontrada desde o México até o Brasil, no estado do Mato Grosso (Fig. 2). Floresce e frutifica o ano todo.

Apresenta grande plasticidade morfológica. No que diz respeito ao número de lacínias do cálice, as lacínias intermediárias são tão desenvolvidas quanto as principais, variando então de 4-8, porém, inequiláteras. Além disso, a cor da flor pode variar de branca a vermelha.

Manettia reclinata é a espécie típica do gênero descrita em 1771 por Linnaeus. Ao criar o nome do tipo, Linnaeus refere Mutis como autor, porém não indica nenhum tipo observado por ele nem por Mutis quando descreve tanto o gênero quanto a nova espécie. Assim, estamos indicando um tipo para o gênero no presente trabalho. Aqui também sinonimizamos *M. coccinea*, pois pouco difere morfológicamente de *M. reclinata*.

Material selecionado: BRASIL: ACRE: Rio Branco, Parque Zoobotânico, bloco 2, 28. IV. 1992 (fr), G. Claros 76 (INPA). RONDÔNIA: Alvorada, 22. VI. 1983 (fl, fr), M.G. Silva 6352 (IAN, MG, RB). AMAZONAS: Rio Purus between Campina and Tambaqui, 19. VI. 1971 (fl, fr), G.T. Prance, P.J.M. Maas, A.A. Atchley, W.C. Steward, D.B. Woolcort, D.F. Coelho, O.P. Monteiro, W.S. Pinheiro & J.F. Ramos 13383 (F, K, MO, NY, S). AMAPÁ: Macapá, Serra do Navio, 18. III. 1962 (fl, fr), J. Mattos & N. Mattos 10200 (HAS, SP). PARÁ: Itaituba, Serra do Cachimbo, estrada Santarém-Cuiabá, km 1007-1012, 15. V. 1983 (fl, fr), M.N. Silva 353 (MO, NY). MATO GROSSO: Juína, 06. VII. 1997 (fr), V.C. Souza, J.P. Souza, V.R. Scalon, A.R. Duarte 18279 (ESA).

22. *Manettia riedelii* Wernh., J. Bot. 57 (Suppl.) 36. 1919.

Tipo: Brasil. Rio de Janeiro, Campos, VII. 1832 (fl), *Riedel* 620 (Lectotipo: K!, aqui designado).

Ocorre no Brasil, nos estados de Minas Gerais, Espírito Santo e Rio de Janeiro (Fig. 5). Floresce e frutifica de abril a julho.

Manettia riedelii apresenta-se com anteras e estigmas exsertos, sendo que o mais comum no gênero é apresentar um ou outro. Fato interessante é que o cálice é marcescente no fruto maduro. Wernham no seu tratamento para *Manettia* (1918, 1919), ao descrever esta espécie, não elegeu um tipo. Estamos então, lectotipificando um dos materiais por ele analisado.

Material selecionado: BRASIL: MINAS GERAIS: Caratinga, Matão, Fazenda Montes Claros, 19. IV. 1984 (fl, fr), P.M. Andrade & M.A. Lopes 136 (UPCB). ESPÍRITO SANTO: Itaguassu, Jatiboca, 15. V. 1946 (fl, fr), A.C. Brade, Altamiro & A.P. Duarte 18196 (F, RB). RIO DE JANEIRO: Três Irmãos, sem data (fl, fr), A.J. Sampaio 3284 (R).

23. *Manettia rojasiana* Chodat & Hassl., Bull. Herb. Boissier sér. 2, 4: 91. 1904.

Tipo: Paraguai. Sierra de Maracayu, Nov., *T. Rojas 5405* (Lectotipo: MO!, Isolectotipo: BM!, G!, K!, S!, aqui designados).

Encontrada no Brasil e Paraguai. No Brasil, registrada coleta apenas para o estado de Mato Grosso do Sul (Fig. 3). Encontrada com flor ou fruto durante quase todo o ano nos outros países. No Brasil, apenas em maio.

Manettia rojasiana é a única espécie a apresentar corola urceolada. Ela também pode ser de vermelha à alaranjada com lobos amarelos. O fruto é obovoide e pubescente.

Material selecionado: BRASIL: MATO GROSSO DO SUL: Bodoquena, 15. V. 2004, (fl, fr), G. Hatschbach, M. Hatschbach & O.S. Ribas 72982 (CTES, MBM, HUEFS, INPA, ESA, ALCB).

24. *Manettia tweedieana* K. Schum., Fl. Bras. 6 (6): 169-170. 1889.

Tipo: Uruguay ad Rio Grande, *Tweedie s.n.* (Holótipo: B, fotografia do holótipo: IAN!, MO!).

Fig. 9 I-L

Encontrada no estado do Paraná e regiões limítrofes deste (Paraguai e Argentina) (Fig. 5). Foi coletada com flor o ano todo, porém frutifica nos meses de janeiro e fevereiro.

As inflorescências em *Manettia tweedieana* são frondoso-bracteosas. Em partes mais velhas do caule, desenvolvem-se estrias, principalmente onde há torção para o suporte em substratos, dando aspectos de pequenas alas. O fruto também possui cálice marcescente.

Material selecionado: BRASIL: PARANÁ: Santa Helena, Porto Verde, 09 dez 1977 (fl), G. Hatschbach 40535 (MBM, UPGB).

25. *Manettia verticillata* Wernh., Journ. Bot. 57 (Suppl.) 18: 34-35. 1919.

Tipo: Brasil. Rio de Janeiro. Serra da Estrela, III. 1833, *Riedel 502* (Lectotipo: K!, aqui designado).

Fig. 9 M-N

Encontrada apenas no Brasil, de Minas Gerais até Santa Catarina (Fig. 5). Floresce e frutifica o ano todo. É uma espécie semelhante à *M. congesta* pelas suas inflorescências, porém diferencia-se pelos indumentos, principalmente nas folhas. Nos botões, os tricomas concentram-se no ápice formando um tufo.

Material selecionado: BRASIL: MINAS GERAIS: Pico da Bandeira, perto de Caparaó, 06. IX. 1977 (fl), G.J. Shepherd, J. Semir, J.B. de Andrade & V. Leite 5762 (PEL). RIO DE JANEIRO: Serra da Estrela, estrada Rio-Petrópolis, 16. I. 1937 (fl), J.G. Kuhlmann 133 (RB). PARANÁ: Bituruna, 13. II. 1996 (fl, fr), G. Hatschbach, J. Lindeman & H. Haas 13861 (NY). SANTA CATARINA: Papanduva, 07. XII. 1956 (fl), L.B. Smith & R. Klein 8419 (F).

Discussão

No Brasil foram registradas 25 espécies do gênero *Manettia* encontradas em borda de mata ou cerrado. Geralmente são trepadeiras delgadas, sublenhosas a lenhosas. Contudo, mais rara, é *M. irwinii*, uma erva rizomatosa, encontrada no cerrado de Goiás.

O caule pode se apresentar de cilíndrico a tetragonal, estes geralmente alados, torcidos, estriados ou lisos. As folhas são sempre simples, em geral membranáceas ou cartáceas com margens planas, menos frequente, subcoriáceas (*M. mitis* e *M. irwinii*). Pode também apresentar-se linear-lanceoladas a subuladas, no caso de *M. irwinii*.

As flores possuem formas desde hipocrateriforme a infundibuliforme, raro urceolada (*M. rojasiana*). O padrão de cor da corola varia desde branca, rosada, vermelha, ou ainda, vermelha com lobos amarelos. Neste último caso, os lobos tornam-se amarelos após a fecundação.

Das espécies de *Manettia* ocorrentes no Brasil, 20 são endêmicas (*M. beyrichiana*, *M. campanulacea*, *M. chrysoderma*, *M. congesta*, *M. congestoides*, *M. fimbriata*, *M. glazioviana*, *M. glaziovii*, *M. gracilis*, *M. irwinii*, *M. luteorubra*, *M. mitis*, *M. paranensis*, *M. parvula*, *M. pauciflora*, *M. pedunculata*, *M. pubescens*, *M. riedelii* e *M. verticillata*). O estado do Rio de Janeiro destaca-se por apresentar o maior número de *Manettia* (14).

Há ainda seis espécies que ocorrem fora do Brasil como: *M. cordifolia*, que é encontrada também no Peru, Bolívia, Paraguai, Argentina e Uruguai; *M. alba*, uma espécie da Amazônia Oriental na Guiana, Suriname, Guiana Francesa, com representantes no Pará e Amapá; *M. paraguariensis* ocorre também no Paraguai e Argentina; *M. reclinata* distribui-se

do México até o Brasil; *M. rojasiana* ocorre também no Paraguai e *M. tweedieana*, no Paraguai e Argentina.

Agradecimentos

Aos curadores dos herbários aqui listados pelo empréstimo do material. Ao Programa REFLORA CNPq (563538/2010-4), FAPESP (2010/5289-5) pela concessão de auxílio e a CAPES pela bolsa concedida à primeira autora. Ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da UNICAMP, pelo apoio logístico dispensado e aos consultores *ad hoc* pelas valiosas sugestões.

Referências Bibliográficas

- ANDERSSON, L. 1992. A provisional checklist of neotropical Rubiaceae. Scripta Botanica Belgica 1: 1-199.
- ANDERSSON, L. & PERSSON, C. 1991. Circumscription of the tribe Cinchoneae (Rubiaceae) – a cladistic approach. Plant Systematics and Evolution 178 (1/2): 65-94.
- ANDERSSON, L., ROVA, J.H.E. & GUARIN, F.A. 2002. Relationships, circumscription, and biogeography of *Arcytophyllum* (Rubiaceae) based on evidence from cpDNA. Brittonia 54(1): 40-49.
- AUBLET, J.B.C.F. 1775. Histoire des Plantes de la Guaine Française. V. 2. T. 37. Chez P.F. Dodot, Paris, 95-98.
- BREMER, B. & MANEN, J.F. 2000. Phylogeny and classification of the subfamily Rubioideae (Rubiaceae). Plant Systematics and Evolution 225: 43-72.
- BROWNE, P. 1756. The Natural History of Jamaica 142-143, tab. 3, fig. 2.
- LINNAEUS, C. 1771. Mantissa Plantarum 2: 553–554, 558.
- MABBERLEY, D.J. 2008. The Plant-book. A Portable Dictionary of the Vascular Plants. 3^a.ed. Cambridge University Press. Cambridge. 1040p.

RICHARD, A. 1830. Memoire sur la famille des Rubiacées. Mémoires de la Société d'Histoire Naturelle 5: 277.

SCHREBER, J.C.D. 1789. Genera Plantarum. 1: 790.

SCHUMANN, K. 1891. Rubiaceae. In: A. Engler & K. Prantl (eds), Die naturlichen Pflanzenfamilien 4: 1–156.

SWARTZ, O. 1788. Prodromus. 37.

THIERS, B. [continuously updated]. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih>

VELLOZO, J.M.C. 1829. Florae Fluminensis. Rio de Janeiro p. 44-46.

WERNHAM, H.F. 1918. The genus *Manettia*. Tropical American Rubiaceae. J.Bot. 57(Suppl.):1-16.

WERNHAM, H.F. 1919. The genus *Manettia*. Tropical American Rubiaceae. J. Bot. 57 (Suppl.): 17-44.

WILLDENOW, C.L. 1797. In: CAROLLA LINNE. Species Plantarum V.5. 4 ed. Berlim, Ed. C.L. Willdenow. 624-625.

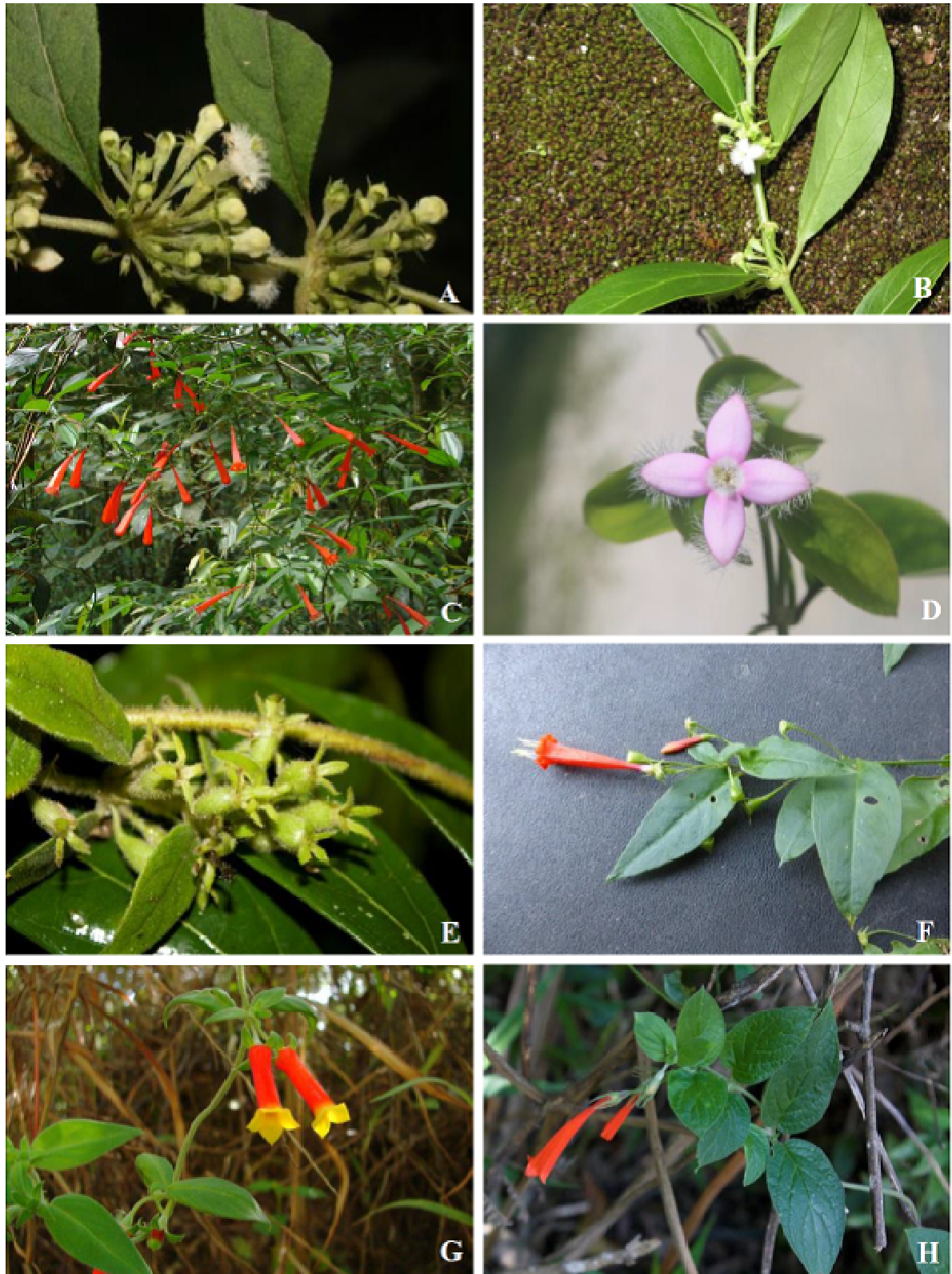


Figura 1. A. *Manettia congesta* (Vell.) K. Schum., B. *M. congestoides* Wernh., C. *M. chrysoderma* Sprague, D. *M. fimbriata* Cham. & Schltdl., E. *M. glaziovii* Wernh., F. *M. gracilis* Cham. & Schltdl., G. *M. luteorubra* (Vell.) Benth., H. *M. pubescens* Cham. & Schltdl. (Fotos: Marcela F. Silveira)

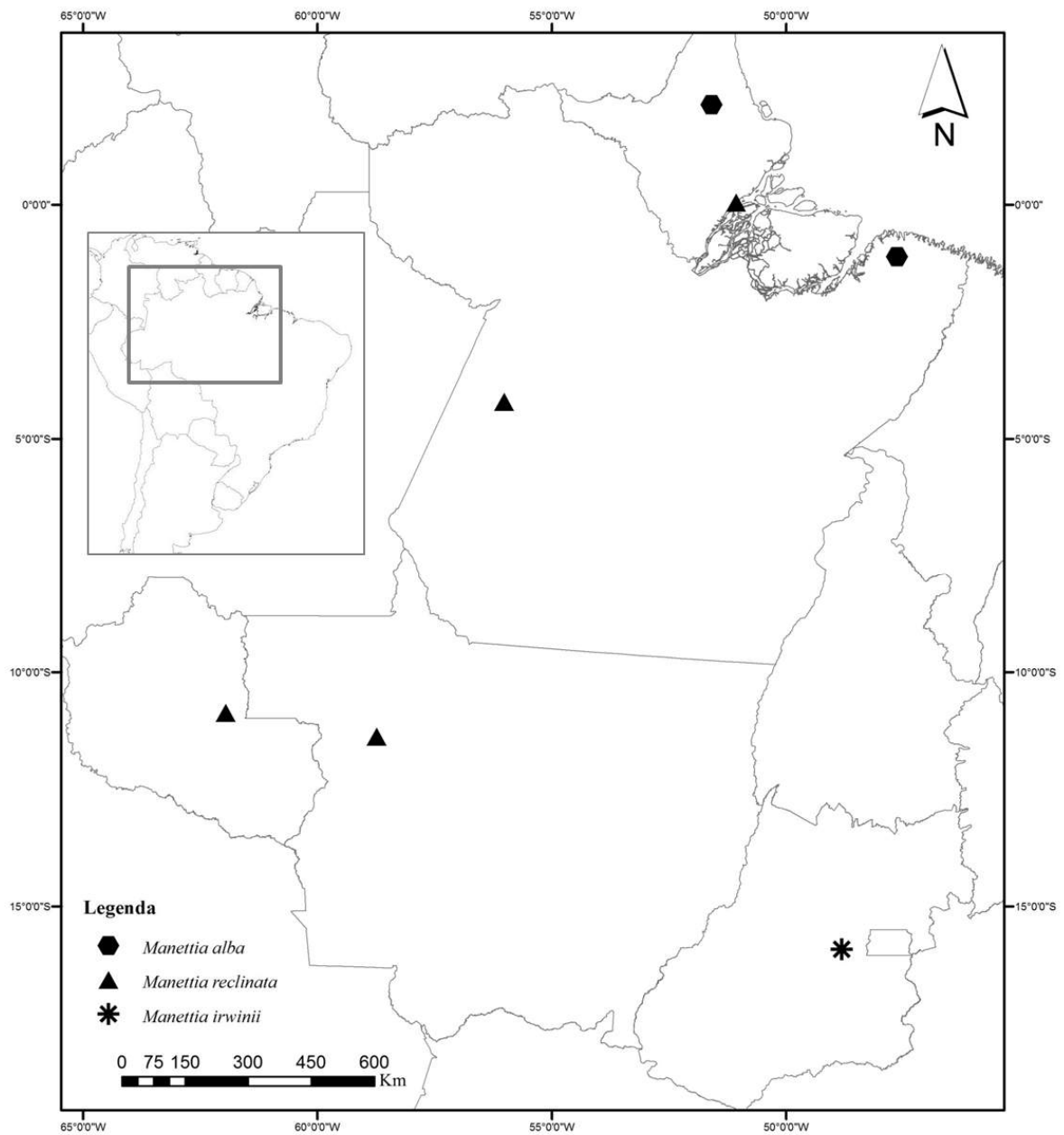


Figura 2. Distribuição de *M. alba*, *M. irwinii* e *M. reclinata* no Brasil.

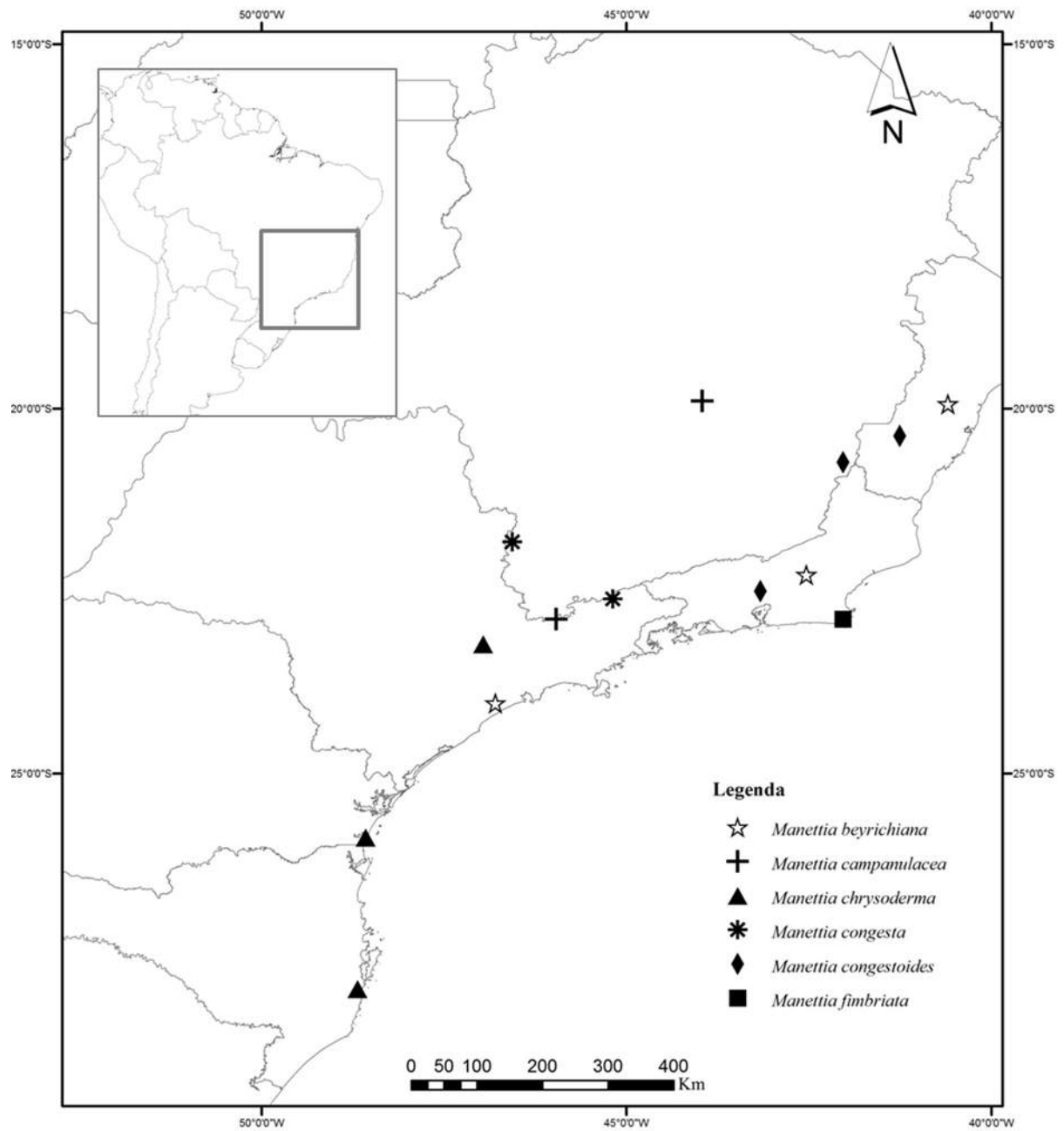


Figura 3. Distribuição de *M. beyrichiana*, *M. campanulacea*, *M. chrysoderma*, *M. congesta*, *M. congestoides* e *M. fimbriata* no Brasil.

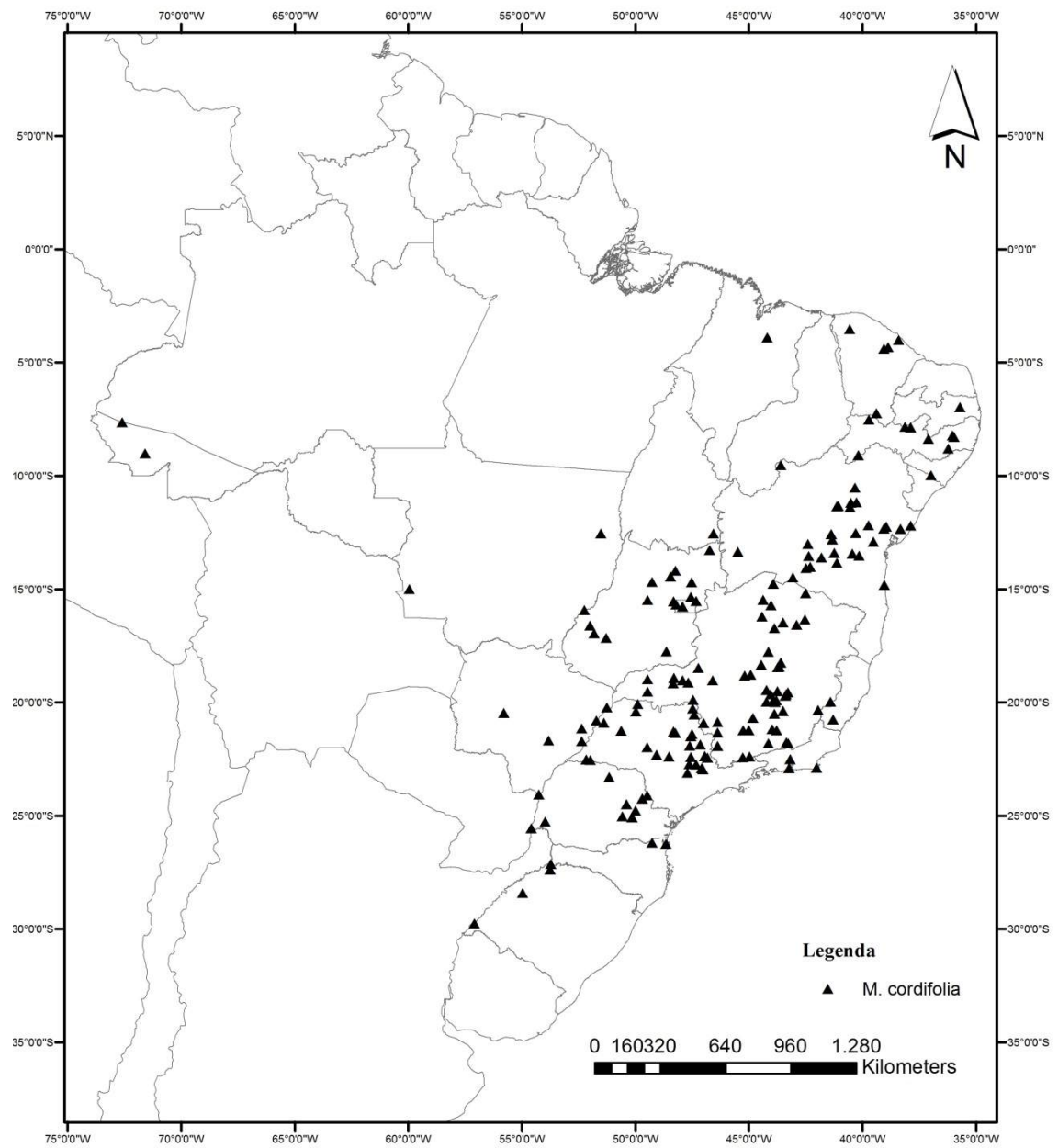


Figura 4. Distribuição de *M. cordifolia* no Brasil.

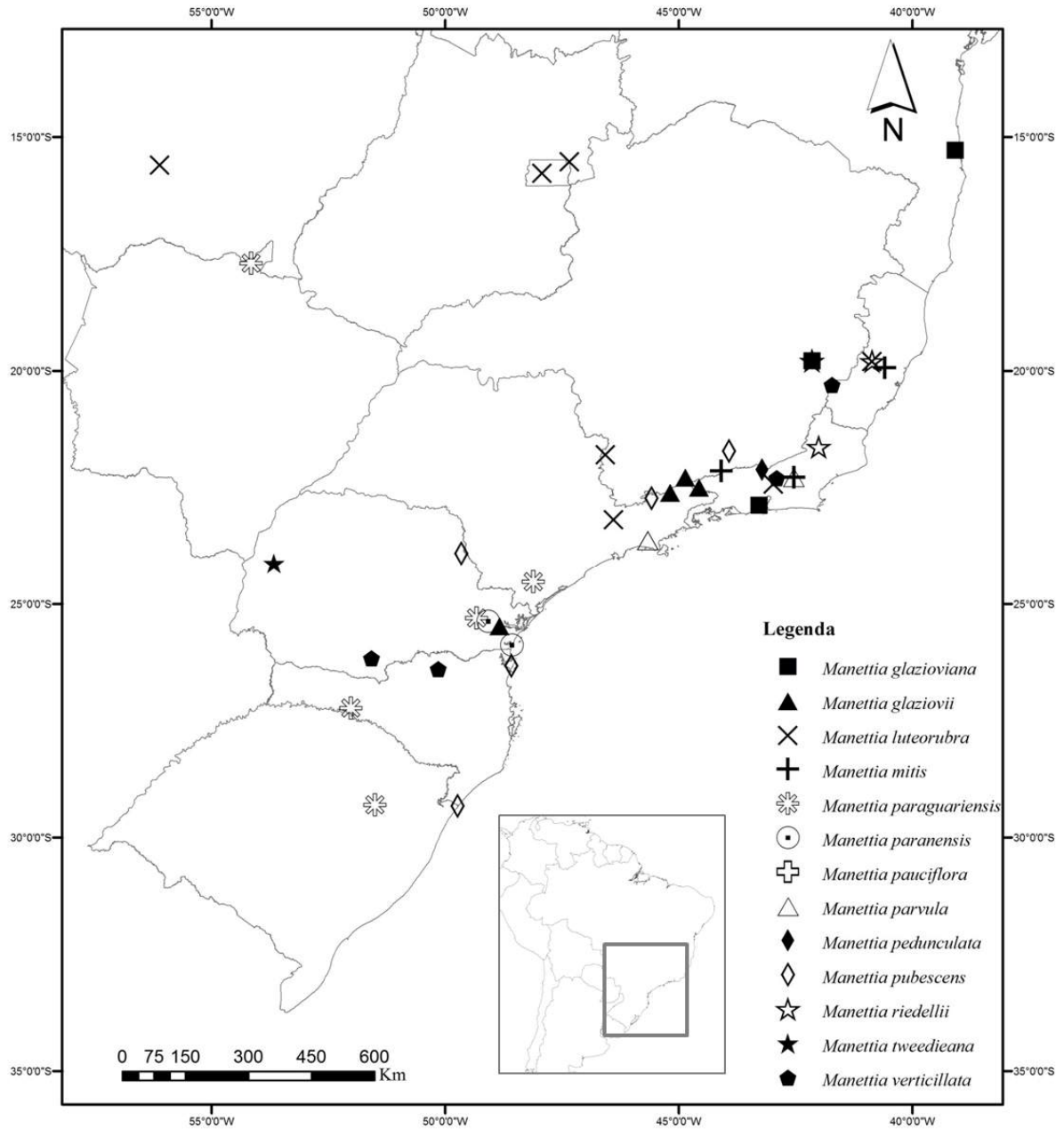


Figura 5. Distribuição de *M. glazioviana*, *M. glaziovii*, *M. luteorubra*, *M. mitis*, *M. paraguariensis*, *M. paranensis*, *M. pauciflora*, *M. parvula*, *M. pedunculata*, *M. pubescens*, *M. riedellii*, *M. tweedieana* e *M. verticillata* no Brasil.



Figura 7. A-D. *Manettia beyrichiana* K. Schum. A. Ramo florífero. B. Flor. C. Detalhe da corola. D. Fruto.; E-G *M. campanulacea* Standl. E. Ramo florífero. F. Flor. G. Detalhe da corola.; H-K *M. chrysoderma* Sprague. H. Ramo florífero. I. Flor. J. Detalhe da corola. K. Fruto.; L-O *M. congesta* (Vell.) K. Schum. L. Ramo florífero. M. Flor. N. Detalhe da corola. O. Fruto.; P-Q *M. glazioviana* (K. Schum.) Sucre. P. Ramo florífero. Q. Fruto.



Figura 8. A-B *Manettia glaziovii* Wernham. A. Ramo florífero. B. Fruto; C-F *M. gracilis* Cham. & Schltdl. C. Ramo florífero. D. Flor. E. Detalhe da corola. F. Fruto; G-J *M. luteorubra* (Vell.) Benth. G. Ramo florífero. H. Flor. I. Detalhe da corola. J. Fruto; K-N *M. paraguariensis* Chodat. K. Ramo florífero. L. Flor. M. Detalhe da corola. N. Fruto.



Figura 9. A-D *Manettia pauciflora* Dusén; A. Ramo florífero. B. Flor. C. Detalhe da corola. D. Fruto; E-H *M. pubescens* Cham. & Schltdl. E. Ramo florífero. F. Flor. G. Detalhe da corola. H. Fruto; I-L *M. tweediana* K. Schum. I. Ramo florífero. J. Flor. K. Detalhe da corola. L. Fruto; M-N *M. verticillata* Wernham. M. Ramo florífero. N. Fruto

CAPÍTULO 3

***Manettia grazielae*: a new species of *Manettia* (Rubiaceae) from São Paulo State, Brazil**

M. F. Silveira¹, L. Macias² and L. Kinoshita³

(Artigo será enviado para o Kew Bulletin.)

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 13083-970, Campinas, SP, Brazil. E-mail: marcela.firens@gmail.com

² Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, 96010-900, Capão do Leão, RS, Brazil. E-mail: lmacias@uol.com.br

³ Departamento de Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 13083-970, Campinas, SP, Brazil. E-mail: luizakin@unicamp.br

Summary. During a taxonomic revision of the genus *Manettia* in Brazil, one species were found in São Paulo State that was considered new to science (*Manettia grazielae*) and is described, illustrated, and compared here with morphologically similar taxa.

Key words. Neotropics, Atlantic Forest, taxonomy, Spermacoceae.

Introduction

Manettia Mutis in Linnaeus (1771) is a genus of climbing species, sometimes shrubby plants (*M. irwinii* Steyer. (1978)) that occur from South America to Mexico and the Antilles. The total number of species in the genus is uncertain, as according to Mabberley (2008) there are 80 species of *Manettia*, while Andersson (1992) recognized 123.

There had been four studies of *Manettia*: the first, by Schumann (1889) in the *Flora Brasiliensis*, included Brazilian species and a few references to Venezuelan species; the second, covering the whole genus, was produced by Wernham (1918/19); Chung published preliminary studies of two sections within the genus in 1967 and 1968, but did not complete the genus; Macias (1998) examined the genus in Brazil, Paraguay, Argentina, and Uruguay and reported 33 species.

Manettia has traditionally been placed in the tribe Cinchoneae (De Candolle, 1830; Schumann, 1889; Steyermark, 1974 and Robbrecht, 1988) due to its ovary with numerous ovules per locule, dried fruits, and winged seeds. However, *Manettia* was instead placed in tribe Hedyotideae by Verdcourt (1958) and Bremekamp (1966) due to the presence of raphides.

In a study by Groeninckx *et al.* (2009) that included molecular data, *Manettia* was assigned to tribe Spermacoceae, within the subfamily Rubioideae.

One new species of *Manettia* for São Paulo State, Brazil, found during a taxonomic revision of the genus is described here.

Material and methods

This study was based on herbarium collections from the Atlantic Forest from Brazil. Specimens of PEL, SP and UEC collections were studied. Herbarium abbreviations follow Index Herbariorum (Thiers, 2013). Morphological studies were carried out under a stereomicroscope using dried specimens. The distribution map for the species was produced by ARC-GIS.

Description

***Manettia grazielae* Macias & M.F.Silveira sp. nov.** Type: Brazil. São Paulo: Lavrinhas, 12 km N of the city, Vale do Ribeirão do Braço, 22°27'23"S, 44°52'48"W, 06 April 1995, *I. Koch & J.L.A. Moreira 211* (holotype: UEC!; isotypes: PEL!; SP!).

Herbaceous vine, glabrous; stems terete, striate, 1.5–2.5 mm thick, glabrous or pubescent; internodes 2.3–13.5 cm in main stems, and 1.2–2.5 cm long in secondary stems. Stipules triangular, 1.7–5.5 × 2.7–3.6 mm, connate at base, acute to acuminate at apex, pubescent outside, with coleters at margins. Petioles 4.3–9 mm long, 0.7–1 mm thick, pubescent or tomentose; leaf blades elliptic to elliptic-lanceolate, 2.1–8.5 × 0.6–3 cm, acute at base, acute to acuminate at apex, pubescent throughout; secondary veins 5–6 each side. Inflorescences axillary, reduced cymes of 1–2 flowers. Pedicels 9–20 mm long at anthesis. Flower buds capitate, obtuse at apex. Calyx green; tube 0.5–0.7 mm long; lobes 4, triangular, 2.5–3.5 × 1.2–1.9 mm, acute at apex, thick, pubescent outside, glabrous inside; intermediate lobes lacking. Corolla hypocrateriform, dark pink to red; tube 13.5–15.7 mm long, 2.5–3.2 mm wide at base, 3–4.3 mm wide at mouth, puberulous outside, glabrous and with a ring of hairs at 3.5–4.2 mm from base; lobes 4, patent, triangular, 2.7–3.9 × 3–4.3 mm, puberulent outside, glabrous inside. Stamens 4, included; anthers 1.9–2.5 mm long, dorsifixed, sessile. Ovary ovoid to oblate, 2–2.5 mm long, pubescent. Style included, 7.2–7.4 mm long, glabrous; style branches spatulate; stigma papillose. Disk continuous, do-nut-shaped, on top of the ovary. Capsules ovoid, 4.3–4.8 × 3.3–4.2 mm, flattened at top, calyx persistent, with pedicels 13–26.5 mm long. Seeds winged, round to broadly elliptic in outline, 2–2.6 × 1.6–2.1 mm. Fig. 1 and 2.

RECOGNATION. *Manettia grazielae* seems *M. pauciflora* by the corolla hypocrateriform with reflexed lobes in 90°. But diverges by the hairy ring in the internal face of the tube, in contrast of a tube with the superior inner half covered by trichomes, as well the bud apex obtuse-rounded in *M. grazielae* and compressed in *M. pauciflora*.

DISTRIBUTION. So far, this species was found only in the municipality of Lavrinhas, in the state of São Paulo, Brazil. Map 1.

SPECIMENS EXAMINED. BRAZIL. São Paulo: Lavrinhas, 12 km N of the city, Vale do Ribeirão do Braço, 22°27'26"S, 44°52'54"W, 13 June 1996, *Macias et al. 362* (PEL, SP, UEC); *Macias et al. 363* (PEL, SP, UEC).

HABITAT. Tropical rain forest, Serra da Mantiqueira, Atlantic Forest, 500 m alt.

CONSERVATION STATUS. Very rare. According to IUCN (2013), *M. graziellae* is in Data deficient (DD) category – Not enough data to make an assessment of its risk of extinction

PHENOLOGY. Collected in flowering and fruiting stage in April and June.

ETYMOLOGY. The specific epithet is dedicated to Graziela Maciel Barroso, the famous botanist from Brazil who contributed to the knowledge of the systematic and floristic studies of Brazilian plants.

NOTES. *Manettia graziellae* is a slender vine found in the forest edge. The flowers of *M. graziellae* are in the axils of the leaves as of the main branches as of the secondary branches. Anthers are positioned at different heights in corolla, between 0.2-0.4 mm. Another interesting aspect is the bending that occurs in peduncle and where there is a thickening near the insertion of the fruit. This set (peduncle-fruit) seems a pipe.

Acknowledgments

We thank the curators of PEL, SP and UEC for access to their collections and/or for loans of material. We also thank the “Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal” at UNICAMP for supporting this study and CAPES for financial support. We are grateful to Klei Sousa for the line drawings.

References

- Andersson, L. (1992). A provisional checklist of neotropical Rubiaceae. *Scripta Botanica Belgica* 1: 1–199.
- Bremekamp, C.E.B. (1966). Remarks on the position, the delimitation and the subdivision of the Rubiaceae. *Acta Botanica Neerlandica*. 15: 1–33.
- Chung, I. (1967.) Studies in *Manettia* (Rubiaceae) sect. *Heterochlora* K. Schum. *Phytologia* 15:272–288.
- Chung, I. (1968). Studies in *Manettia* (Rubiaceae) sect. *Pyrrhanthos* K. Schum. *Phytologia* 17:353–366.
- De Candolle, A.P. (1830). *Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis*. V. 4. Paris, Treuttel & Wurtz. p. 362–365.

Groeninckx, I., Dessein, S., Ochoterena, H., Persson, C., Motley, T.J., Karehed, J., Bremer, B., Huysmans, S. & Smetes E. (2009). Phylogeny of the herbaceous tribe Spermacoceae (Rubiaceae) based on plastid DNA data. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 96: 109–132.

IUCN Standards and Petitions Subcommittee (2013). Guidelines for Using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 10.1. Prepared by the Standards and Petitions Subcommittee. <http://www.iucnredlist.org/documents/RedListGuidelines.pdf>.

Mutis, J.C.B. (1771). *Manettia* In: Linnaeus, C. *Mantissa Plantarum* 2: 553–554, 558.

Mabberley, D.J. (2008). *The Plant–book. A Portable Dictionary of the Vascular Plants*. 3^a. ed. Cambridge University Press. Cambridge, 1040 p.

Macias, L. (1998). *Estudos taxonômicos do gênero Manettia Mutis ex L. (Rubiaceae) no Brasil, Paraguai, Argentina e Uruguai*. Thesis, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, Brasil, 356 f.

Robbrecht, E. (1988). Tropical Woody Rubiaceae. *Opera Botanica Belgica* 1: 1–271.

Schumann, K.M. (1888–1889). *Rubiaceae*. In: Martius, C.F.P. & Eichler, A.G. *Flora Brasiliensis*. Fleischer. Leipzig. 6 (6): 4–466.

Steyermark, J.A. (1974). Rubiaceae. In: Lasser, T. & Steyermark, J.A. (eds). *Flora da Venezuela. Instituto Botánico*. Caracas. 9 (1): 1–2070.

Steyermark, J.A. (1978). New Brazilian Rubiaceae. *Brittonia* 30 (1): 36–38.

Thiers, B. (2014) [continuously updated]. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Available from: <http://sweetgum.nybg.org/ih/>.

Verdcourt, B. (1958). Remarks on the classification of the Rubiaceae. *Bulletin du Jardin botanique de l'Etat a Bruxelles* 28: 209–290.

Wernham, H.F. (1918). The genus *Manettia*. Tropical American Rubiaceae. *Journal of Botany* 57 (Suppl.): 1–16.

Wernham, H.F. (1919). The genus *Manettia*. Tropical American Rubiaceae. *Journal of Botany* 57 (Suppl.): 17–44.

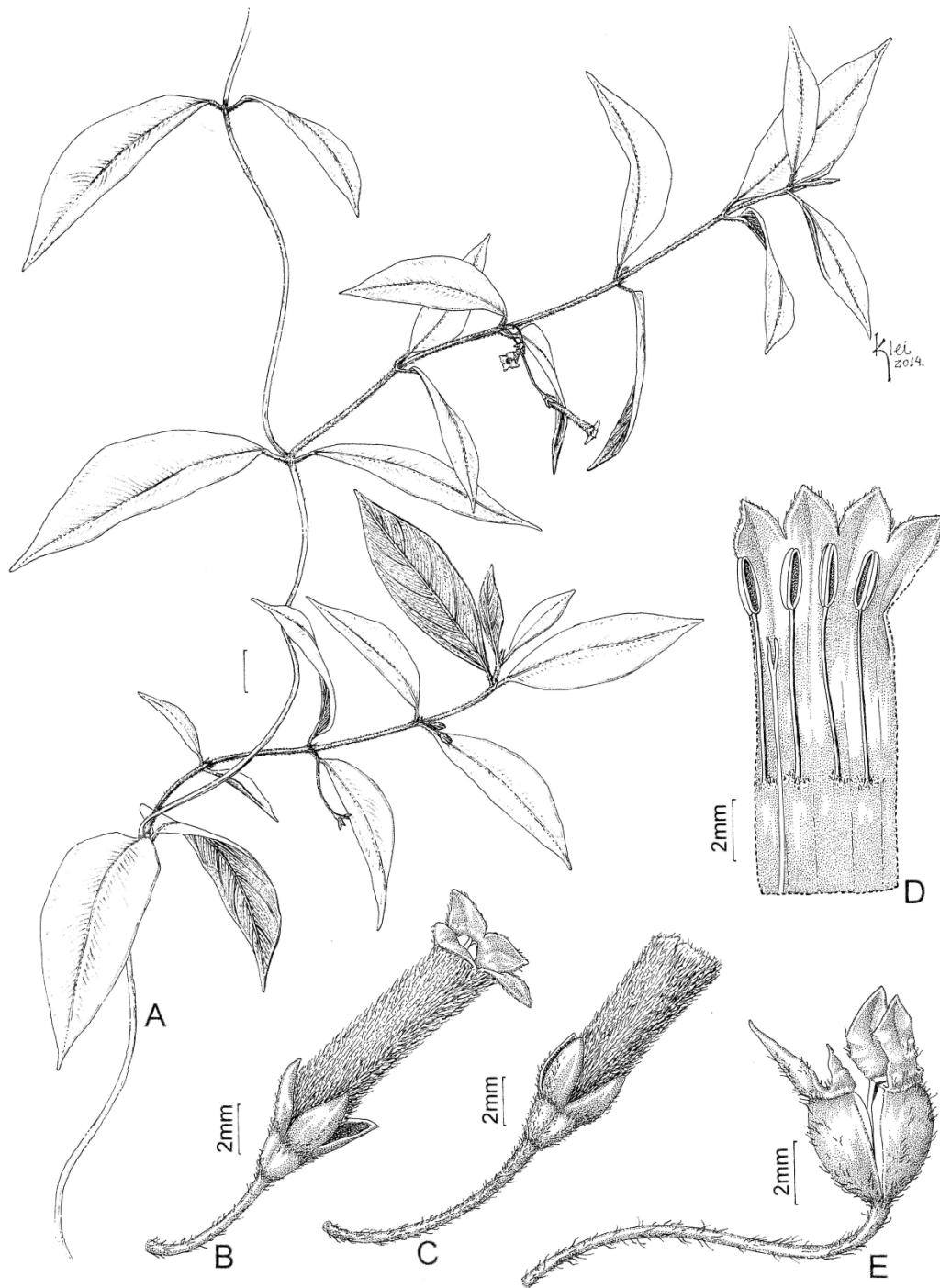
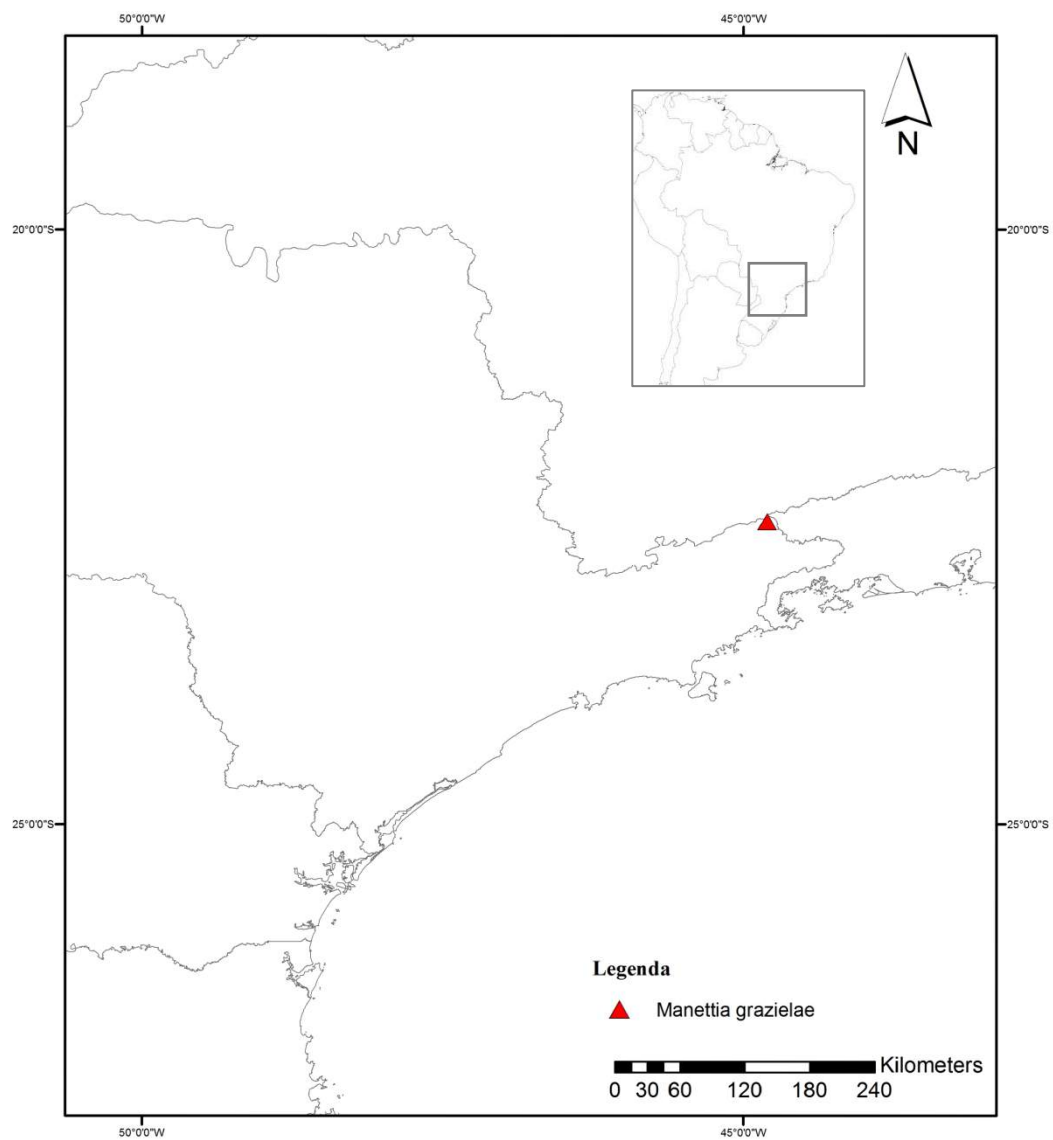


Figure 1.

Manettia grazielae Macias & M.F. Silveira. **A.** Habit. **B.** Flower. **C.** Flower bud. **D.** Open flower showing the ring of hairs inside the corolla tube. **E.** Fruit. Drawing by Klei Sousa.



Figure 2. *Manettia grazielae* Macias & M.F. Silveira. Photo: George J. Shepherd.



Map 1. Distribution of *Manettia grazielae* Macias & M.F. Silveira.

DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que o conteúdo de minha dissertação de Mestrado/tese de Doutorado intitulada “ESTUDOS TAXONÔMICOS E FILOGENÉTICOS DE *MANETTIA* MUTIS EX L. (RUBIOIDEAE, RUBIACEAE)”.

(☒) não se enquadra no § 4º do Artigo 1º da Informação CCPG 002/13, referente a bioética e biossegurança.

Tem autorização da(s) seguinte(s) Comissão(ões):

() CIBio – Comissão Interna de Biossegurança , projeto No. _____, Instituição: _____

() CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais , projeto No. _____, Instituição: _____

() CEP - Comissão de Ética em Pesquisa, protocolo No. _____, Instituição: _____

** Caso a Comissão seja externa ao IB/UNICAMP, anexar o comprovante de autorização dada ao trabalho. Se a autorização não tiver sido dada diretamente ao trabalho de tese ou dissertação, deverá ser anexado também um comprovante do vínculo do trabalho do aluno com o que constar no documento de autorização apresentado.*

Marcela Fins da Silva
Aluno: (nome completo)

Luiz Sumiko Kinoshita
Orientador: (nome completo)

Para uso da Comissão ou Comitê pertinente:

() Deferido () Indeferido

Carimbo e assinatura

Para uso da Comissão ou Comitê pertinente:

() Deferido () Indeferido

Carimbo e assinatura

Profa. Dra. Rachel Meneguello
Presidente
Comissão Central de Pós-Graduação
Declaração

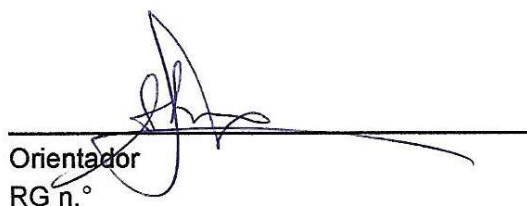
As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado/Doutorado, intitulada : **“ESTUDOS TAXONÔMICOS E FILOGENÉTICOS DE *MANETTIA* MUTIS EX L. (RUBIOIDEAE, RUBIACEAE)”** , não infringem os dispositivos da Lei n.º 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Campinas, 22 / 06 / 2015



Autor

RG n.º 34326202-2



Orientador
RG n.º