

**FILOGENIA E BIOGEOGRAFIA DE DROSERACEAE
INFERIDAS A PARTIR DE CARACTERES MORFOLÓGICOS
E MOLECULARES (18S, *atpB*, *matK*, *rbcL* e ITS)**

VITOR FERNANDES OLIVEIRA DE MIRANDA

Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade Estadual
Paulista “Julio de Mesquita Filho”,
Campus de Rio Claro, para a
obtenção do título de Doutor em
Ciências Biológicas (Área de
Concentração: Biologia Vegetal)

Rio Claro
Estado de São Paulo – Brasil
Abril de 2.006

**FILOGENIA E BIOGEOGRAFIA DE DROSERACEAE
INFERIDAS A PARTIR DE CARACTERES MORFOLÓGICOS
E MOLECULARES (18S, *atpB*, *matK*, *rbcL* e ITS)**

VITOR FERNANDES OLIVEIRA DE MIRANDA

Orientador: Prof. Dr. ANTONIO FURLAN

Co-orientador: Prof. Dr. MAURÍCIO BACCI JÚNIOR

**Tese apresentada ao Instituto de
Biociências da Universidade Estadual
Paulista “Julio de Mesquita Filho”,
Campus de Rio Claro, para a
obtenção do título de Doutor em
Ciências Biológicas (Área de
Concentração: Biologia Vegetal)**

Rio Claro
Estado de São Paulo – Brasil
Abril de 2.006

582 Miranda, Vitor Fernandes Oliveira de
M672f Filogenia e biogeografia de Droseraceae inferidas a partir
de caracteres morfológicos e moleculares (18S, *atpB*, *matK*,
rbcL e ITS) / Vitor Fernandes Oliveira de Miranda. –
Rio Claro : [s.n.], 2006

132 f. : il., figs., tabs., fots.

Tese (doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Institu-
to de Biociências de Rio Claro

Orientador: Antonio Furlan

Co-orientador: Mauricio Bacci Junior

1. Botânica – Classificação. 2. Botânica sistemática molecu-
lar. 3. *Aldrovanda*. 4. *Dionaea*. 5. *Drosera*. 6. DNA. I. Título.

Ficha Catalográfica elaborada pela STATI – Biblioteca da UNESP
Campus de Rio Claro/SP

Agradecimentos

Ao Prof. Furlan por sua sabedoria, por toda a sua paciência, por toda a sua compreensão, que sempre soube me ouvir e sempre me viu, acima de tudo, como pessoa.

Ao Prof. Maurício por todas as palavras de elevação nas horas certas; apesar da distância física dos últimos anos, sempre esteve do meu lado me apoiando incondicionalmente, mostrando o lado positivo que sempre existe não importa a situação.

À minha amiga Celinha por toda sua doçura e amizade, sempre disponível – mesmo virtualmente – em todos os momentos.

À Adel, sempre, palavras faltam para exprimir os meus sentimentos.

Ao Prof. Fernando Marques pela minha introdução e por todo o aprendizado sobre filogenia.

Aos colegas Aloysio, Ângela, Camila, Cláudia, Daniela, Denilson, Denise Bráz, Denise Cavalcanti, Fred, Gaúcho, Gil, Ilka, João, Kaila, Maíra, Mantovani, Michele, Renata, Suzana, Valesca, Vinícius por todo companheirismo.

Aos amigos Maurício, Bob e Bibiana, sempre presentes.

Ao Curso de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Unesp (Rio Claro) pela oportunidade.

À Universidade Estadual Paulista (Rio Claro) pelo espaço e fornecimento de toda estrutura para o meu aprendizado.

Ao Juliano e Joaquim pelo apoio sempre que precisei para transpor os desafios da computação paralela.

À Valnice por todo apoio e auxílio no herbário.

A todos os colegas dos grupos de discussão virtuais *Carnivorous Plants Discussion Group*, Clado, Cladosoft, Taxacom, TaxonData, Taxonomia por todas as discussões sobre sistemática, evolução, filogenia e assuntos afins.

Aos amigos Paulo e Tina pelo privilégio de poder trabalhar e compartilhar o maior tempo de cada dia.

Aos amigos Fernando Rivadavia e Fábio Pinheiro pelos tantos anos de amizade e por todo o trabalho que temos desenvolvido juntos.

A todos aqueles que contribuíram com o envio de material botânico, sem o qual esse trabalho não seria possível, meus profundos agradecimentos ao Allen Lowrie, Andreas Fleischmann, Bruce Salmon, Christian Breckpot, Dave Evans, Prof. Douglas W. Darnowski, Eric Schlosser, Fábio Pinheiro, Fernando Rivadavia, Filippo Tassara, Ingo Stapel, Ivan Snyder, Dr. Jan Schlauer, João Roberto Gabbardo, Joe Griffin, Kamil Pasek, Dr. Lubomír Adamec, Matt Hochberg, Miguel Porto, Nathan J. Clemens, Nigel

Hurneyman, Noah Elhardt, Richard Jobson, Sean Samia, Stefan Ippenberger, Yves-^vAndre Utz.

Aos curadores dos herbários estrangeiros e nacionais pela disponibilização dos materiais.

Ao Prof. Lubomír Adamec que sempre me apoiou, por sua amizade e todas as discussões das quais tanto aprendi. Agradeço também pelo fornecimento de diversas imagens apresentadas nesse trabalho.

A todos, indistintamente, Akito Kawahara, Carlos Sarmiento, Cornelia Löhne, Cristiano Moreira, Daniel Miranda, Derek Sikes, Fernando de Vaz-de-Mello, James Carpenter, James Zahniser, Jason Mate, Jim Fetzner, Julian Bueno, Julian Faivovich, Kipling Will, Leah Larkin, Marcos Lhano, Martin Ramirez, Niklas Wahlberg, Susana Neves, Volker Von Wirth por todas as discussões e suporte teórico e metodológico ao uso dos índices de Bremer e matriz de custos.

A Capes e Fapesp pelo apoio financeiro para com o projeto, sem o qual nada disso seria possível.

Aos colegas diversos do mundo científico os quais tive o prazer e também desprazer de conviver; que as asperezas se reflitam em aprendizado, sempre.

Aos meus alunos e orientandos, a todos que convivem comigo no laboratório, pela empolgação pelo saber que sempre me serviram de estímulo e alento para continuar na jornada.

A todos aqueles que mostraram para mim o quanto eu não sabia; que os ensinamentos sirvam sempre para atestar a ignorância e fomentar a humildade, acima da vil arrogância, tão habitudinária em nosso meio.

Os agradecimentos a todos que forneceram de alguma forma, direta ou indiretamente, a oportunidade para continuar trabalhando, estudando, aprendendo, ensinando, vivenciando algo que sempre fui apaixonado: a biologia.

A toda minha família, meu pai Fernando, minha mãe Joana, meus irmãos Anita, Amauri, André, Érika, Fernanda, Fernando, meus sobrinhos Amanda, Bia, Ju, Neto, minha tia Thereza pelo privilégio de tê-los como família.

À minha vó Chica, sempre.

À Cris por tudo que passamos juntos, pelo privilégio de tê-la como mãe de meu filho.

À Jo por todo seu amor e companheirismo, nos momentos de alegria e tristeza, sempre do meu lado, incondicionalmente.

Ao meu filho Lucas por ter mudado a minha maneira de entrever a vida; por ter mostrado, muitas vezes, o que de fato é o importante.

Aos meus mentores sempre presentes.

Ao Arquiteto do Universo pelo dom da vida.

VFOM

ÍNDICE

Página

RESUMO.....	1
INTRODUÇÃO.....	3
O PRESENTE ESTUDO.....	7
OBJETIVOS.....	11
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	12
CAPÍTULO 1. <i>DROSERA REGIA</i> OU <i>FREATULINA REGIA</i>? A MONOFILIA DE <i>DROSERA</i> (DROSERACEAE) QUESTIONADA PELO MÉTODO DE OTIMIZAÇÃO DIRETA BASEADA NA ANÁLISE DOS GENES 18S, <i>ATPB</i>, <i>MATK</i> E <i>RBCL</i>	16
Introdução.....	17
Material e Métodos.....	21
Resultados.....	25
Discussão.....	30
Referências bibliográficas.....	38
Apêndice I.....	43
CAPÍTULO 2. <i>FILOGENIA E BIOGEOGRAFIA DE DROSERACEAE</i> BASEADAS NA ANÁLISE DE DADOS MORFOLÓGICOS E MOLECULARES	59
Introdução.....	60
Material e Métodos.....	63
Resultados.....	76

Discussão.....	89
Referências bibliográficas.....	104
Apêndice II.....	111
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	131

1.A. RESUMO

A família Droseraceae está organizada taxonomicamente em quatro gêneros: *Drosera* L., *Dionaea* Ellis, *Aldrovanda* L. e *Drosophyllum* Link, sendo que estes três últimos são monotípicos. Entretanto, análises de caracteres morfológicos, anatômicos e moleculares levaram à inclusão de *Drosophyllum* numa nova família. O gênero *Drosera* está representado por aproximadamente 130 espécies, sendo a maior parte espécies perenes. As espécies podem ser encontradas em regiões temperadas e tropicais, apresentando elevado grau de endemismo, embora várias espécies sejam cosmopolitas. As relações filogenéticas de Droseraceae são pouco conhecidas, resultando em uma classificação sujeita a muitas controvérsias. As classificações propostas são conflitantes e estudos filogenéticos têm demonstrado que diversos táxons infragenéricos (subgêneros e seções) de *Drosera* não são monofiléticos. A obtenção de uma hipótese filogenética robusta para o grupo pode, potencialmente, resolver inúmeras questões sistemáticas para Droseraceae. O presente estudo se divide em duas partes (representadas pelos capítulos) nos quais o primeiro visa (1) verificar a posição filogenética de Droseraceae dentro de Caryophyllales *s.l.*; (2) verificar as relações de *Aldrovanda*, *Dionaea* e *Drosera* e (3) identificar a posição de *Drosera (Freatulina) regia* em Droseraceae. A segunda parte (segundo capítulo), por sua vez, visa elucidar as relações filogenéticas das diversas seções e subgêneros de *Drosera*, empregando-se dados moleculares do gene plastidial *matK*, dos espaçadores internos transcritos (ITS1 e ITS2) do DNA nuclear ribossomal (DNAnr), bem como o estudo de 61 caracteres morfológicos. O protocolo analítico deste estudo envolve o exame dos parâmetros de análise em relação às topologias resultantes (análise de sensibilidade), bem como verificar quais parâmetros de análise minimizam eventos de homoplasia em cada partição de dados (i.e., dados moleculares e morfológicos – análise de congruência). Com a hipótese filogenética das matrizes de dados combinadas (ITS+*matK*+MORFO), obtidas com os parâmetros de custos os quais minimizaram as homoplasias, foi gerado um cladograma de áreas e discutidos os prováveis eventos históricos que levaram ao padrão atual de distribuição de Droseraceae.

1.B. ABSTRACT

The family Droseraceae includes four genera: *Drosera* L., *Dionaea* Ellis, *Aldrovanda* L., and *Drosophyllum* Link, the last three of which are monotypic. However analyses of morphological, anatomical, and molecular data corroborate the exclusion of *Drosophyllum* to a new family. The genus *Drosera* includes nearly 130 species, mostly perennial. Species are found in temperate and tropical regions, with endemic and cosmopolitan distribution. There are few studies regarding phylogenetic relationships of Droseraceae, and the recent classifications are questionable. The classifications are controversial and phylogenetic studies have shown that many sections and even subgenera of *Drosera* are not monophyletic. The aim of this study is to obtain a robust phylogenetic hypothesis to Droseraceae. This study consists of two sections (chapters): the goals of the first chapter are (1) to analyze the relationship of Droseraceae considering Caryophyllales *s.l.*, (2) to analyze the relationship of *Aldrovanda*, *Dionaea*, and *Drosera* and (3) to verify the position of *Drosera (Freatulina) regia* in Droseraceae; the goals of the second chapter are to analyze the phylogenetic relationships of sections and subgenera of *Drosera*, based on morphological (61 characters) and molecular (*matK* and ITS region) sequence data. Sensitivity analysis was performed using a range of analytical parameters in attempt to verify the parameter set which minimized the homoplasies in each data partition (morphological and molecular datasets). The final cladogram based on combined datasets was employed to produce an area cladogram trying to elucidate the historical events related to the distribution pattern of Droseraceae.

2. INTRODUÇÃO

2.1. A família Droseraceae Salisb.

Droseraceae Salisb. está representada por aproximadamente 130 espécies reunidas taxonomicamente em quatro gêneros, sendo *Dionaea* Ellis, *Aldrovanda* L. e *Drosophyllum* Link monotípicos, enquanto que o gênero *Drosera* L. compreende a maior parte das espécies da família (Diels, 1906; Cronquist, 1981, Juniper *et al.*, 1989; Judd *et al.*, 1999). Entretanto, caracteres morfológicos não corroboram a inclusão de *Drosophyllum lusitanicum* (L.) Link (espécie subarbustiva, perene, nativa do norte de Marrocos e sul de Portugal e Espanha) em Droseraceae. Esses caracteres incluem: placentação basal, presença de câmbio funcional, circinação reversa das folhas, anatomia das glândulas secretoras de mucilagem (localizadas na face abaxial das folhas), mecanismo passivo de captura de presas (Diels, 1906; Juniper *et al.*, 1989; Miranda *et al.*, 2005a; 2005), pólen (Takahashi & Sohma, 1982), padrão de germinação das sementes (Conran *et al.*, 1997; Miranda *et al.*, 2005a), além de dados citogenéticos (Behre, 1929). Estudos filogenéticos baseados no seqüenciamento do gene *rbcL* (Williams *et al.*, 1994; Fay *et al.*, 1997; Lledo *et al.*, 1998) e *matK* (Meimberg *et al.*, 2000) também não sustentam que esta espécie deva ser integrante de Droseraceae. Segundo os estudos de Fay *et al.* (1997), Lledo *et al.* (1998) e Meimberg *et al.* (2000), *Drosophyllum* está mais próximo filogeneticamente de Ancistrocladaceae e Dioncophyllaceae do que de Droseraceae. Dessa forma, a exclusão do gênero *Drosophyllum* na família monotípica Drosophyllaceae Chrtek & Studnicka (Chrtek & Studnicka, 1989) é sustentada não só por dados morfológicos, mas também por dados moleculares.

2.2. Considerações sobre o gênero *Drosera* L.

Dentre os gêneros de Droseraceae, apenas *Drosera* L. está representado no Brasil com aproximadamente 20 espécies. Com relação aos trabalhos taxonômicos que tratam as espécies brasileiras do gênero, destacam-se os de Saint-Hilaire (1824 a, b), que descreveu a maioria das espécies, e os de Diels (1906), que revisou mundialmente a família. Posteriormente, as Droseraceae brasileiras foram descritas em floras regionais e, numa revisão ampla, Silva & Giulietti (1997) levantaram as Droseraceae brasileiras. Mais recentemente, Rivadavia (2003) descreveu quatro novas espécies de *Drosera* para o Brasil.

2.3. Classificações infragenéricas de *Drosera* L.

A primeira classificação infragenérica de *Drosera* foi proposta por De Candolle (1824). Duas seções foram reconhecidas no referido estudo: sec. *Rorella* e sec. *Ergaleium*. Essa classificação foi baseada meramente na morfologia dos estiletes, sendo a primeira seção representada por espécies com estiletes simples ou 2 a 3-partidos e a segunda por estiletes multipartidos. Planchon (1848), em um estudo mais amplo, reconheceu para o gênero treze seções, baseando-se na morfologia geral, incluindo os estiletes.

Diels (1906), em sua clássica monografia de Droseraceae, propôs para *Drosera* três subgêneros (*Rorella* (DC.) Diels, *Ptycnostigma* (Planch.) Diels e *Ergaleium* (DC.) Diels) e doze seções (fig. 1A), sendo a maior parte modificada da proposta prévia de Planchon (1848). Para a sua classificação, Diels (1906) empregou a morfologia geral das espécies bem como a dos estiletes. Muitas espécies foram descritas posteriormente, algumas delas com posição sistemática duvidosa. Dentre elas, possivelmente *Drosera regia* é a espécie que tem levantado maiores discussões (Seine & Barthlott, 1994; Miranda *et al.*, 2005a; b). Posteriormente, Marchant *et al.* (1982) utilizaram a morfologia de órgãos vegetativos e dos estiletes e reconheceram três subgêneros (*Drosera*, *Ergaleium* DC. e *Rorella* (DC.) Diels) e treze seções (fig. 1B) para *Drosera*.

Drosera regia, espécie endêmica de uma pequena cadeia montanhosa da Região do Cabo, África do Sul (Stephens, 1926; Obermeyer, 1970), inicialmente foi posicionada na seção *Psychophila*, apesar de alguns caracteres morfológicos, como caule lenhoso e estiletes inteiros, não serem compatíveis com este táxon (Stephens, 1926). Por esta razão, Seine & Barthlott (1994) propuseram um novo subgênero para essa espécie, denominado *Regiae*. Uma nova classificação infragenérica de *Drosera* foi proposta pelos referidos autores (fig. 1C), baseada em dados morfológicos, palinológicos e também citogenéticos.

Pode-se notar, entretanto, que os grupos infragenéricos propostos pelas referidas classificações não aparentam ser naturais (Seine & Barthlott, 1993; 1994; Rivadavia *et al.*, 2003; Miranda *et al.*, 2005b). Miranda *et al.* (2005b) verificaram, em estudo filogenético baseado em dados moleculares (região ITS do DNA ribossomal) e morfológicos, que a seção *Drosera* não aparenta ser um grupo monofilético. Da mesma forma, Rivadavia *et al.* (2003), em análise filogenética inferida pelo gene *rbcL*, demonstraram que a classificação infragenérica de *Drosera* apresenta táxons parafiléticos.

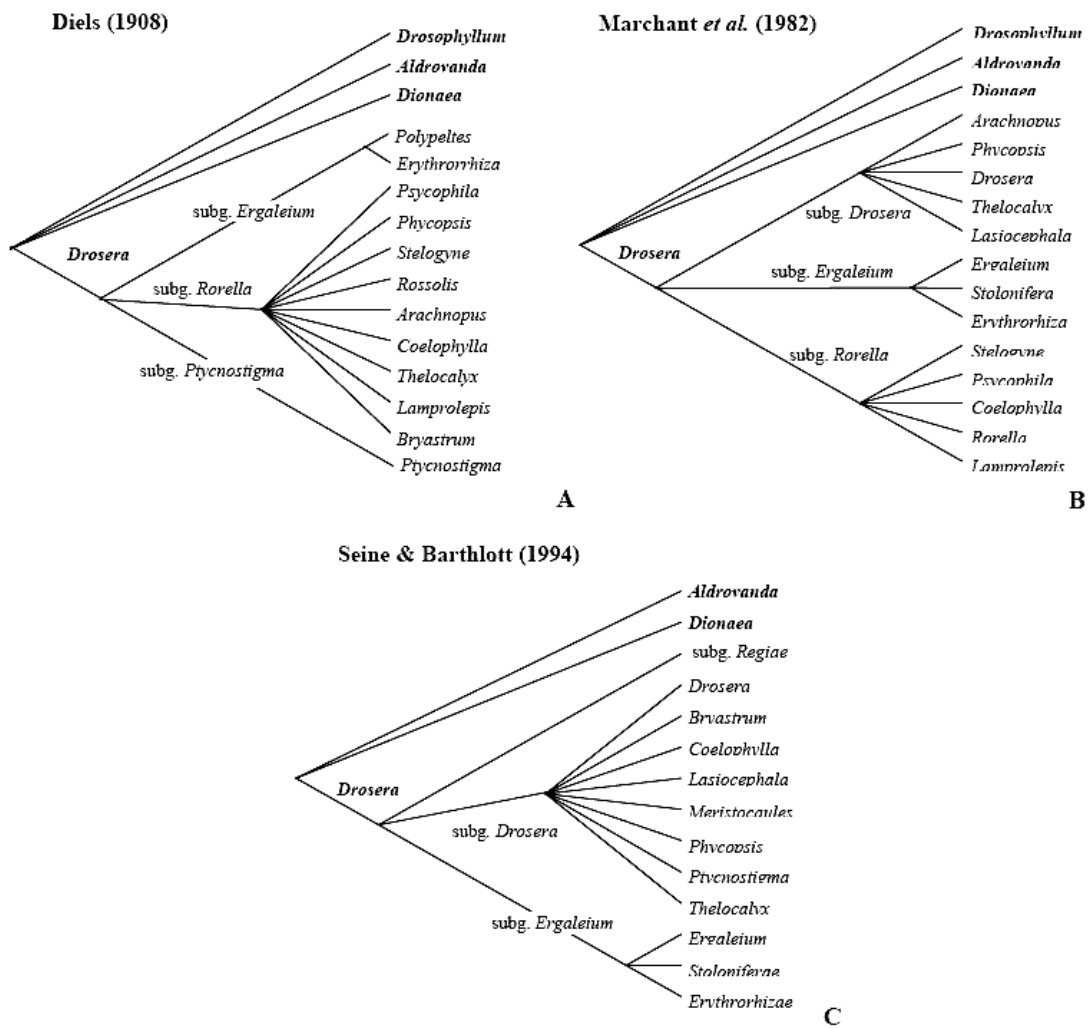


Figura 1. Representação por dendogramas das diversas classificações propostas para Droseraceae. **A.** Proposta de Diels (1906). **B.** Proposta de Marchant *et al.* (1982). **C.** Proposta de Seine & Barthlott (1994).

Considerando as diversas classificações de *Drosera*, as quais se apresentam de maneira discordante quando comparadas suas delimitações taxonômicas infragenéricas, novas evidências, provenientes do seqüenciamento de DNA, podem ser uma importante ferramenta para a melhor compreensão das relações filogenéticas das espécies. A análise filogenética das seqüências de DNA, aliada ao estudo das características morfológicas das espécies, como demonstrado por Miranda *et al.* (2005b), podem trazer resultados promissores para a sistemática de Droseraceae.

O presente estudo se divide em duas partes (representadas pelos capítulos) nas quais a primeira visa (1) verificar a posição filogenética de Droseraceae dentro de Caryophyllales *s.l.*; (2) verificar as relações de *Aldrovanda*, *Dionaea* e *Drosera* e (3) identificar a posição de *Drosera (Freatulina) regia* em Droseraceae. A segunda parte (segundo capítulo), por sua vez, visa elucidar as relações filogenéticas das diversas seções e subgêneros de *Drosera*, empregando-se dados moleculares do gene plastidial *matK* e dos espaçadores internos transcritos (ITS1 e ITS2) do DNA nuclear ribossomal (DNA_nr), bem como o estudo de 61 caracteres morfológicos. O protocolo analítico deste estudo envolve o exame dos parâmetros de análise em relação às topologias resultantes (análise de sensibilidade), bem como verificar quais parâmetros de análise minimizam eventos de homoplasia em cada partição de dados (i.e., dados moleculares e morfológicos – análise de congruência). Com a hipótese filogenética das matrizes de dados combinadas (ITS+*matK*+MORFO), obtidas com os parâmetros de custos os quais minimizaram as homoplasias, foi gerado um cladograma de áreas e discutidos os prováveis eventos históricos que levaram ao padrão atual de distribuição de Droseraceae. Trata-se de um estudo altamente representativo para Droseraceae, considerando caracteres nunca levantados de maneira tão abrangente para a família (sejam morfológicos ou moleculares) e empregados para as investigações filogenéticas.

3. O PRESENTE ESTUDO

3.1. Considerações gerais

Apesar da taxonomia vegetal ter se diversificado muito nas últimas décadas, abrangendo novas fontes de dados como a citogenética, palinologia, padrões de germinação e seqüências de DNA, a classificação infragenérica de *Drosera* ainda é sujeita a muitas controvérsias (Diels, 1906; Marchant *et al.*, 1982; Seine & Barthlott, 1994; Rivadavia *et al.*, 2003; Miranda *et al.*, 2005b). As classificações propostas são conflitantes e estudos filogenéticos têm demonstrado que diversos táxons infragenéricos de *Drosera* não são monofiléticos (Rivadavia *et al.*, 2003; Miranda *et al.*, 2005b).

Historicamente, os caracteres mais utilizados para a taxonomia do gênero *Drosera* foram o hábito, forma foliar, número e morfologia dos estiletos, presença ou ausência de estípulas (Miranda *et al.*, 2005a) e órgãos especializados como tubérculos e propágulos (De Candolle, 1824; Planchon, 1848; Diels, 1906). Importantes dados citogenéticos para Droseraceae (revistos por Schlauer, 1987), bem como estudos palinológicos (Takahashi & Sohma, 1982), foram de grande relevância para a compreensão da filogenia e classificação infragenérica de *Drosera*. Estudos mais recentes têm indicado novas evidências úteis à taxonomia do grupo, incluindo informações fitoquímicas (Culham & Gornall, 1994), morfologia de tricomas (Seine & Barthlott, 1993; Länger *et al.* 1995; Miranda & Sajo, 2000; Miranda *et al.*, 2005a), bem como informações sobre os tipos de germinação (Conran *et al.*, 1997; Miranda & Sajo, 2000; Miranda *et al.*, 2005a).

Dados moleculares têm sido amplamente utilizados na reconstrução de filogenias de grupos vegetais (*e.g.* APG, 1998; 2003). Isso se deve à impressionante quantidade de caracteres variáveis os quais podem ser utilizados para a identificação, classificação e reconstrução filogenética, uma vez que cada nucleotídeo pode variar entre indivíduos, populações ou até mesmo entre níveis taxonômicos superiores (Doyle, 1992). Nesse contexto, a utilização do seqüenciamento de DNA para estudos filogenéticos tem contribuído consideravelmente para a compreensão da filogenia de Droseraceae (*e.g.* Meimberg *et al.*, 2000; Rivadavia *et al.*, 2003; Miranda *et al.*, 2005b), assim como de outras famílias. Entretanto, são poucos os estudos disponíveis sobre a filogenia de Droseraceae utilizando dados moleculares. Alguns empregaram o gene cloroplasmático *rbcL*, codificador da subunidade maior da enzima ribulose 1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Albert *et al.*, 1992; Williams *et al.*, 1994; Rivadavia *et al.*, 2003). Miranda

et al. (2005b), utilizaram o seqüenciamento da região ITS do DNA nuclear ribossomal para as inferências filogenéticas de Droseraceae.

Os estudos de Albert *et al.* (1992) e Williams *et al.* (1994) demonstraram a monofilia de Droseraceae, com a provável exclusão de *Drosophyllum*. Da mesma forma, foi demonstrado que o gênero *Drosera* é monofilético, com a possível exclusão de *Drosera regia* (Williams *et al.*, 1994). Segundo Miranda *et al.* (2005b), *D. regia* é a espécie mais basal dentro do gênero, entretanto, esse fato não compromete a monofilia de *Drosera*. Porém, estudos filogenéticos são incoerentes quanto às posições filogenéticas de *Aldrovanda*, *Dionaea* e *Drosera regia* (e.g. Rivadavia *et al.*, 2003; Miranda *et al.*, 2005b), evidenciando a necessidade de maiores investigações focando essa relação. Por outro lado, é notável a baixa representatividade em número de espécies apresentada por estes estudos. Assim, fica evidente a necessidade de estudos filogenéticos mais abrangentes, os quais venham a contemplar amplamente os diversos táxons de Droseraceae, da maneira como realizado por esse estudo. A premissa básica deste trabalho foi de que a alta representatividade taxonômica aliada ao emprego de metodologias eficientes e consistentes de análise (no caso da *Direct Optimization*, pouco empregada para filogenias de grupos vegetais) propiciaria maior entendimento sobre as relações de parentesco entre os membros de Droseraceae e, desta forma, maior compreensão sobre o padrão de diversificação desses organismos. Adicionalmente, uma hipótese filogenética robusta para a maioria das espécies deste grupo possibilitaria elucidar os processos biogeográficos, com a possível identificação dos eventos históricos, envolvidos na diversificação deste grupo.

3.2. *Direct Optimization* e análise de sensibilidade

Considerando as análises filogenéticas que se propõem a empregar dados moleculares (principalmente ácidos nucléicos), um grande obstáculo ainda tem sido a escolha do método mais consistente para se estabelecer as relações de homologia entre os nucleotídeos. Apesar de ainda não existir um consenso sobre qual seria o “melhor” ou “mais adequado” método, diversos algoritmos têm sido desenvolvidos buscando o aperfeiçoamento desta metodologia (alguns revistos por Thompson *et al.*, 1999 e Giribet *et al.*, 2002), sendo que muitos deles demandam excessivo tempo computacional. A maior parte dos métodos baseia-se na similaridade das seqüências por meio da construção de uma matriz de distâncias (matriz fenética) (e.g. ClustalW [Thompson *et al.*, 1994], PileUp [disponível em <http://biobase.dk/gcgmanual/pileup.html>]), sendo

posteriormente a mesma empregada para nortear o alinhamento que se inicia pelas seqüências mais similares. Entretanto, métodos baseados em distância (Fenética), empregados para a reconstrução das relações de homologia e posterior análise filogenética, têm sido recentemente refutados, uma vez que metodologias filosoficamente conflitantes são explicitamente assumidas (Phillips *et al.*, 2000). Contrários a este procedimento metodológico, determinados autores (*e.g.*, Wheeler, 1995; Phillips *et al.*, 2000) defendem a manutenção da coerência filosófica durante todo o processo analítico, ou seja, desde o alinhamento das seqüências até a construção da hipótese filogenética. Assim, com o objetivo de manter as mesmas premissas e a mesma posição filosófica para o alinhamento e a reconstrução filogenética, têm sido propostos métodos de alinhamento que empregam a parcimônia como critério de otimização (como o programa MALIGN [Wheeler, 1996], no caso em que este critério for assumido para a análise filogenética), de maneira a buscar um alinhamento entre as seqüências que venham a minimizar as homoplasias. Outra metodologia, por outro lado, denominada *Direct Optimization* (Wheller, 1996; Janies & Wheeler, 2002), propõe a reconstrução de uma hipótese filogenética (tendo como critério de otimização a máxima parcimônia) diretamente baseada nas seqüências nucleotídicas, sem a necessidade de um alinhamento prévio como os demais métodos. A premissa da DO (*Direct Optimization*) consiste em que *GAPs* não são entidades observáveis, enquanto que os *indels* (inserções ou deleções) são os processos causadores das diferenças de tamanho das seqüências (Wheller, 1996). Assim, através do tratamento direto de *indels* como processos de transformação e a inferência de seqüências ancestrais, uma (ou mais) hipótese filogenética mais parcimoniosa é encontrada. Apesar de serem escassos os estudos que empregaram o método DO, resultados surpreendentes têm sido demonstrados por meio da busca de cladogramas mais parcimoniosos do que aqueles encontrados pelos métodos de alinhamento múltiplo convencionais (*e.g.* Wheller, 1996; Wahlberg & Zimmermann, 2000; Frost *et al.*, 2001; Giribet, 2001; Edgecombe *et al.*, 2002; Giribet *et al.*, 2002).

Entretanto, independente da metodologia empregada para a análise (alinhamento múltiplo ou DO), custos ou penalidades devem ser necessariamente assumidos *a priori*, seja por meio da pesagem diferencial (entre *indels* e substituições ou entre eventos de transição e transversão) ou ainda assumindo o mesmo custo (*i.e.*, o mesmo peso) para todos os eventos (1:1:1:1). Mesmo considerando que a atribuição de penalidades, apesar de poder ser justificada biologicamente, apresenta um certo grau de arbitrariedade e subjetividade (Allard & Carpenter, 1996), é de extrema importância a plena consciência de que uma posição sempre é assumida *a priori* (ainda que seja assumida a mesma penalidade para todos os eventos) e que as análises filogenéticas são diretamente sensíveis às alterações das relações de custos atribuídos inicialmente

(e.g. Wahlberg & Zimmermann, 2000; Edgecombe *et al.*, 2002; Giribet *et al.*, 2002). Dessa forma, o emprego de uma análise de sensibilidade tem sido um procedimento apropriado para se explorar e examinar o efeito das combinações dos parâmetros de custos e penalidades em relação às topologias resultantes da análise filogenética (Wheeler, 1995; Giribet & Wheeler, 1999; Phillips *et al.*, 2000; Giribet *et al.*, 2002). A análise da sensibilidade permite o exame das perturbações ocorridas pela variação dos parâmetros e, o que é muito importante, a reflexão sobre a robustez e o suporte das hipóteses filogenéticas resultantes (Giribet & Wheeler, 1999).

3.3. Análise de congruência

A congruência entre as partições de dados (morfológicos e moleculares) pode ser medida através da *Incongruence Length Difference* (ILD; Farris *et al.*, 1995). A ILD está baseada na premissa de que, dadas duas matrizes de dados (A e B), o número de passos excedentes em um cladograma resultante da matriz A (E_A) ou da matriz B (E_B) pode representar o grau de incongruência entre as referidas matrizes. Portanto, o número de passos encontrado em uma análise a qual empregou as duas matrizes combinadas (E_{COMB}) menos a somatória dos números das análises separadas ($E_A + E_B$) representa a incongruência resultante da combinação das matrizes de dados. Dessa forma, o valor da ILD pode ser calculado por meio da diferença entre o comprimento do cladograma resultante dos dados combinados (e.g., morfológicos e moleculares) e a soma dos comprimentos dos cladogramas gerados a partir das matrizes isoladas (de acordo com a modificação proposta por Wheeler, 1999). A congruência dos caracteres é empregada assim como um critério de otimização para se escolher o conjunto de parâmetros que minimiza eventos de homoplasia entre os dados. Esse procedimento analítico, posterior à análise de sensibilidade, é considerado como uma extensão da parcimônia; da mesma forma que a parcimônia procura minimizar as homoplasias e, conseqüentemente, os números de passos em um cladograma, a análise de congruência dos caracteres procura encontrar o conjunto de parâmetros que maximiza a congruência para todas as partições de dados (Wheeler, 1995; Edgecombe *et al.*, 2002). O resultado desta análise permite, dentro deste contexto analítico, escolher a hipótese filogenética mais corroborada pelos dados existentes.

4. OBJETIVOS

- (1) obter hipóteses filogenéticas, buscar os parâmetros que minimizem os eventos de homoplasia, assim como identificar terminais sensíveis aos parâmetros de custos (*índice de sensibilidade*);
- (2) verificar a posição filogenética de Droseraceae dentro de Caryophyllales *s.l.*;
- (3) verificar as relações entre *Aldrovanda*, *Dionaea* e *Drosera* spp.;
- (4) identificar a posição de *Drosera (Freatulina) regia* em Droseraceae;
- (5) estabelecer as relações filogenéticas entre as espécies de Droseraceae, bem como discutir algumas adaptações morfológicas;
- (6) reconhecer os táxons monofiléticos genéricos e infragenéricos; e
- (7) discutir os prováveis eventos históricos que levaram ao padrão atual de distribuição do grupo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albert, V. A., Williams, S. E. & Chase, M. W. Carnivorous plants: phylogeny and structural evolution. *Science*, v.257, p.1491-1495, 1992.
- Allard, M. W. & Carpenter, J. On weighting and congruence. *Cladistics*. v.12, p.183-198, 1996.
- APG - The Angiosperm Phylogeny Group. An ordinal classification for the Families of flowering plants. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, v.85(4), p.531-553, 1998.
- APG - The Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.141, 399-436, 2003.
- Behre, K. Physiologische und zytologische Untersuchungen über *Drosera*. *Planta*, v.7, p.208-306, 1929.
- Chrtek, S. & Studnicka, M. Contribution to petal venation of selected carnivorous plants. *Preslia*, v.61, p.107-124, 1989.
- Conran, J. G., Jaudzems, V.G. & Hallam, N. D. Droseraceae germination patterns and their taxonomic significance. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.123, p.211-223, 1997.
- Cronquist, A. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University Press, 1981. p.374-376.
- Culham, A. & Gornall, R. J. The taxonomic significance of naphthoquinones in the Droseraceae. *Biochem. Syst. Ecol.*, v.22, p.507-515, 1994.
- De Candolle, A. P. *Droseraceae*. In: *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*. v.1, p. 317-320, 1824.
- Diels, L. *Drosera*. In: Engler, A. *Das Pflanzenreich*. Leipzig: Wilhelm Engelmann, 1906. p.61-128.
- Doyle, J. J. Gene trees and species trees: Molecular systematics as one-character taxonomy. *Systematic Botany*, v.17, p.144-163, 1992.
- Edgecombe, G. D., Giribet, G. & Wheeler, W. C. Phylogeny of Henicopidae (Chilopoda: Lithobiomorpha): a combined analysis of morphology and five molecular loci. *Systematic Entomology*, v.27, p.31-64, 2002.
- Farris, J. S., Källersjö, M., Kluge, A. G. & Bult, C. Testing significance of incongruence. *Cladistics*, v.10, p.315-319, 1995.

- Fay, M. F., Cameron, K. M., Prance, G. T., Lledó, M. D. & Chase, M. W. Familial relationships of *Rhabdodendron* (Rhabdodendraceae): Plastid rbcL sequences indicate a caryophyllid placement. *Kew Bull.*, v.52, p.923-932, 1997.
- Frost, D. R., Rodrigues, M. T., Grant, T. & Titus, T. A. Phylogenetics of the lizard genus *Tropidurus* (Squamata: Tropiduridae: Tropidurinae): direct optimization, descriptive efficiency, and sensitivity analysis of congruence between molecular data and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v.21(3), p.352-371, 2001.
- Giribet, G. & Wheeler, W.C. On gaps. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v.13(1), p.132-143, 1999.
- Giribet, G., Wheeler, W. C. & Muona, J. *DNA multiple sequence alignments*. In: DeSalle, R., Giribet, G. & Wheeler, W. C. (Ed.) *Molecular systematics and evolution: theory and practice*. Basel: Birkhäuser Verlag, 2002. p.107- 114.
- Giribet, G. Exploring the Behavior of POY, a Program for Direct Optimization of Molecular Data. *Cladistics*, v.17, p.S60-S70, 2001.
- Janies, D. A. & Wheeler, W. C. *Theory and practice of parallel direct optimization*. In: DeSalle, R., Giribet, G. & Wheeler, W. C. (Ed.) *Molecular Systematics and Evolution: Theory and Practice*. Basel: Birkhäuser Verlag, 2002. p.115-123.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A. & Stevens, P. F. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, EUA, 1999.
- Juniper, B. E., Robins, R. J. & Joel, D. M. *The carnivorous plants*. Oxford: Academic Press, 1989.
- Länger, R., Pein, I. & Kopp, B. Glandular hairs in the genus *Drosera* (Droseraceae). *Pl. Syst. Evol.*, v.194, p.163-172, 1995.
- Lledo, M. D., Crespo, M. B., Cameron, K. M., Fay, M. F. & Chase, M. W. Systematics of Plumbaginaceae based upon analysis of rbcL sequence data. *Syst. Bot.*, v.23(1), p.21-29, 1998.
- Marchant, N. G., Aston, H. I. & George, A. S. Droseraceae. *Flora of Australia* v.8, p.9-64, 1982.
- Meimberg, H., Dittrich, P., Bringmann, G., Schlauer, J. & Heubl, G. Molecular phylogeny of Caryophyllidae s.l. based on matK sequences with special emphasis on carnivorous taxa. *Plant Biology*, v.2(2), p.218-228, 2000.
- Miranda, V. F. O. & Sajo, M. G. Aspectos morfo-anatômicos de três espécies de *Drosera* durante o desenvolvimento pós-seminal. *Acta Botanica Brasilica*, v.14(2), p.185-195, 2000.
- Miranda, V. F. O., Furlan, A. & Bacci Jr., M. A comparative analysis of Droseraceae Salisb. and Drosophyllaceae Chrtek & Studnicka: morphology, ontogeny and distribution with systematic implications. *Annals of Botany*, 2005a (submitted)

- Miranda, V. F. O., Furlan, A.; Bacci Jr., M. & Martins, V. G. Phylogenetic relationships of Droseraceae based on morphological data and ITS rDNA sequences. *Plant Syst. Evol.*, 2005b (submetido).
- Obermeyer, A. A. *Droseraceae*. In: Codd, L. E., De Winter, B., Killick, D. J. B. & Rycroft, H. B. (Ed.) Flora of Southern Africa. Pretoria: The Government Printer, v.13, 1970.
- Phillips, A., Janies, D. & Wheeler, W. Multiple sequence alignment in phylogenetic analysis. *Mol. Biol. Evol.*, v.16(3), p. 317-330, 2000.
- Planchon, M. J. E. Sur la famille des Droseracees – Revisio Systematica Droseracearum. *Ann. Sci. Nat. Bot. Ser. 9*, p.185-207, 1848.
- Rivadavia, F. Four new species de sundews, *Drosera* (Droseraceae), from Brazil. *Carnivorous Plant Newsletter*, v.32, p.79-92, 2003.
- Rivadavia, F.; Kondo, K.; Kato, M. & Hasebe, M. Phylogeny of the sundews, *Drosera* (Droseraceae), based on chloroplast *rbcL* and nuclear 18S ribosomal DNA sequences. *American Journal of Botany*, v.90(1), p.123-130, 2003.
- Saint-Hilaire, A. *Drosera communis*. *Plantes Usuelles des Brasiliens*, v.1(3), p.1-4, 1824a.
- Saint-Hilaire, A. Droseraceae. *Histoire des plantes les plus remarquables du Brésil et du Paraguay*, v.1, p.253-271, 1824b.
- Schlauer, J. Nomenclatural synopsis of carnivorous phanerogamous plants. *Carnivorous Plant Newsletter*, v.15, p.59- 117, 1987.
- Seine, R. & Barthlott, W. On the morphology of trichomes and tentacles of Droseraceae Salisb. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, v.67, p.345-366, 1993.
- Seine, R. & Barthlott, W. Some proposals on the infrageneric classification of *Drosera* L. *Taxon*, v.43, p.583-589, 1994.
- Silva, T. R. S. & Giuletta, A. M. Levantamento das Droseraceae do Brasil. *Bol. Bot. Univ. São Paulo*, v.16, p.75-105, 1997.
- Stephens, E. L. A new sundew, *Drosera regia* (Stephens), from the Cape Province. *Trans. Roy. Soc. South Africa*, v.8, p.309-312, 1926.
- Takahashi, H. & Sohma, K. Pollen morphology of the Droseraceae and its related taxa. *Sci. Rep. Tohoku Univ.* 4 ser. Biol., v.38, p.81-156, 1982.
- Thompson, J.D., Higgins, D. G. & Gibson, T. J. ClustalW: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, v.22, p.4673-4680, 1994.

- Thompson, J. D., Plewniak, F. & Poch, O. A comprehensive comparison of multiple sequence alignment programs. *Nucleic Acids Research*, v.27(13), p.2682-2690, 1999.
- Wahlberg, N. & Zimmermann, M. Pattern of Phylogenetic Relationships among Members of the Tribe Melitaeini (Lepidoptera: Nymphalidae) Inferred from Mitochondrial DNA Sequences. *Cladistics*, v.16, p.347-363, 2000.
- Wheeler, W. C. Sequence alignment, parameter sensitivity, and the phylogenetic analysis of molecular data. *Syst. Biol.*, v.44, p.321-331, 1995.
- Wheeler, W. C. Optimization alignment: the end of multiple sequence alignment in phylogenetics? *Cladistics*, v.12, p.1-9, 1996.
- Wheeler, W. C. Measuring topological congruence by extending character techniques. *Cladistics*, v.15, p.131-135, 1999.
- Williams, S. E., Albert, V. A. & Chase, M. W. Relationships of Droseraceae: A cladistic analysis of *rbcL* sequence and morphological data. *American Journal of Botany*, v.81(8), p.1027-1037, 1994.

CAPÍTULO 1

**DROSERA REGIA OU FREATULINA REGIA? A MONOFILIA DE DROSERA
(DROSERACEAE) QUESTIONADA PELO MÉTODO DE OTIMIZAÇÃO DIRETA BASEADA
NA ANÁLISE DOS GENES 18S, ATPB, MATK E RBCL**

***DROSERA REGIA* OU *FREATULINA REGIA*? A MONOFILIA DE *DROSERA*
(*DROSERACEAE*) QUESTIONADA PELO MÉTODO DE OTIMIZAÇÃO DIRETA
BASEADA NA ANÁLISE DOS GENES 18S, *ATPB*, *MATK* E *RBCL***

Resumo: Apesar de diversos estudos filogenéticos terem demonstrado a monofilia de Droseraceae e sua posição dentro de Caryophyllales, as relações entre *Drosera*, *Dionaea* e *Aldrovanda* ainda são controvertidas. O presente estudo filogenético baseou-se em dados moleculares dos genes plastidiais *atpB*, *matK* e *rbcL*, assim como do gene 18S do DNA ribossomal nuclear, tendo como objeto de estudo representantes de Caryophyllales *s.l.*, dentre elas Droseraceae, Frankeniaceae, Drosophyllaceae, Nepenthaceae, Ancistrocladaceae, Dioncophyllaceae, Plumbaginaceae e Polygonaceae. As análises foram realizadas com o método de Otimização Direta, assim como foram testados 16 parâmetros de custos (penalidades para GAPS, transversões e transições) e estimada a congruência entre as quatro matrizes de dados (*atpB*, *matK*, *rbcL* e 18S) através do índice ILD (*Incongruence Length Difference*). A hipótese que maximizou a congruência dos dados foi a realizada com pesagem 121 (GAPs:transversões:transições). A análise combinada apresenta Droseraceae como grupo-irmão de Nepenthaceae. A monofilia de Droseraceae é suportada, porém o gênero *Drosera* demonstra ser parafilético se forem consideradas *Drosera arcturi* e *D. regia*. Para que a monofilia de *Drosera* seja mantida, é necessário o reconhecimento do gênero *Freatulina* Chrtek *et* Slavíková, agrupando assim duas espécies (*F. arcturi* e *F. regia*). A carnivoría em Caryophyllales provavelmente surgiu em um único evento histórico, tendo sido perdida completamente para Ancistrocladaceae e parcialmente para Dioncophyllaceae. O cladograma apresentado suporta com alta confiança a homologia entre as armadilhas de *Dionaea* e *Aldrovanda*.

INTRODUÇÃO

A família Droseraceae Salisb. está representada por espécies herbáceas distribuídas por todo globo com exceção dos pólos, geralmente em ambientes ensolarados e úmidos (Juniper *et al.*, 1989; Saridakis *et al.*, 2004). Apresentam o inusitado hábito carnívoro, retirando de pequenas presas (geralmente pequenos artrópodos e moluscos) nutrientes como nitrogênio e fósforo como complemento nutricional (Adamec, 1997). O surgimento de especializações foliares, curiosamente modificadas para a captura de pequenos organismos (Williams, 1976; Juniper *et al.*, 1989; Miranda & Sajo, 2000), associado à presença de glândulas produtoras de enzimas digestivas (Meimberg *et al.*, 2000), provavelmente foi o fator que permitiu que essas plantas explorassem ambientes pobres em determinados nutrientes e ácidos.

Tradicionalmente as Droseraceae foram reunidas em quatro gêneros: *Dionaea* Ellis, *Aldrovanda* L., *Drosophyllum* Link e *Drosera* L, sendo os três primeiros monotípicos (Diels, 1906; Cronquist, 1981). *Aldrovanda vesiculosa* L. apresenta hábito aquático e está amplamente distribuída em águas distróficas da África, Ásia, Austrália e Europa (Figura 4). Apesar de sua ampla distribuição, as populações se apresentam de maneira esparsa e descontínua, considerada espécie ameaçada e até mesmo extinta em certas regiões da Europa (San Martín *et al.*, 2003; Vilkonis, 2003). Foi inicialmente citada como “*Lenticula*

Palustris Indica” por Plukenet (1696) e, posteriormente em 1747, Gaetano Monti descreveu a planta como *Aldrovandi*, em homenagem ao naturalista italiano Ulisse Aldrovandi (Kundu *et al.*, 1996). Em 1753, finalmente, Carolus Linnaeus em sua obra “*Species Plantarum*” designou o binômio *Aldrovanda vesiculosa*, epíteto em referência às armadilhas (folhas modificadas para a captura de presas) supostamente tidas como ocas e fechadas (Lloyd, 1942; Kundu *et al.*, 1996; Breckpot, 1997).

Dionaea muscipula Ellis, “*one of the most wonderful plants in the world*”, assim referida por Charles Darwin em sua minuciosa obra “*Insectivorous Plants*” (1896), teve o seu gênero em homenagem à misteriosa deusa grega Dione, mãe de Afrodite (Juniper *et al.*, 1989; Figura 5). *Dionaea* e *Aldrovanda* apresentam folhas extremamente modificadas em armadilhas do tipo ratoeira (Miranda *et al.*, 2005a), supostamente tidas como homólogas (Cameron *et al.*, 2002; Pennisi, 2002; Rivadavia *et al.*, 2003; Miranda *et al.*, 2005b). *Aldrovanda* já foi descrita como uma versão reduzida e aquática de *Dionaea* (Darwin, 1896; Williams, 1976).

Caracteres morfológicos não corroboram a inclusão de *Drosophyllum lusitanicum* (L.) Link (espécie subarborescente, perene, nativa do norte de Marrocos e sul de Portugal e Espanha) em Droseraceae. Esses caracteres incluem: placentação basal, presença de câmbio funcional, circinação reversa das folhas, anatomia das glândulas secretoras de mucilagem localizadas na face abaxial das folhas, mecanismo passivo de captura de presas (Diels, 1906; Juniper *et al.*, 1989; Miranda *et al.*, 2005b), pólen poliporado em mônades (Takahashi & Sohma, 1982), padrão de germinação das sementes (Conran *et al.*, 1997; Miranda *et al.*, 2005a), além de dados citogenéticos (Behre, 1929). Estudos filogenéticos baseados no seqüenciamento do gene *rbcL* (Williams *et al.* 1994; Fay *et al.* 1997; Lledo *et al.*, 1998) e *matK* (Meimberg *et al.*, 2000; Cuénoud *et al.*, 2002) também não sustentam que essa espécie deva ser integrante de Droseraceae. Segundo Fay *et al.* (1997), Lledo *et al.* (1998) e Meimberg *et al.* (2000), *Drosophyllum* está mais próximo filogeneticamente de Ancistrocladaceae e Dioncophyllaceae do que de Droseraceae. Dessa forma, a inclusão do gênero *Drosophyllum* na família monotípica Drosophyllaceae Chrtek, Slavíková *et Studnicka* (Chrtek *et al.*, 1989) é sustentada não só por dados morfológicos, mas também por dados moleculares.

O gênero *Drosera* L. (gr. *drosos*= orvalho) compreende aproximadamente 130 espécies herbáceas com distribuição cosmopolita (com exceção dos pólos), compreendendo a maior parte das espécies da família (Diels, 1906; Cronquist, 1981, Juniper

et al., 1989; Judd *et al.*, 1999; Figuras 8 e 11). Suas folhas apresentam emergências glandulares secretoras de mucilagem que contêm enzimas digestivas, importantes para a captura e a digestão de pequenos organismos (Juniper *et al.*, 1989; Lloyd, 1942; Miranda & Sajo, 2000; Miranda *et al.*, 2005a). Dentre as espécies descritas, talvez a mais intrigante e objeto de fervorosas discussões taxonômicas e evolutivas seja a africana *Drosera regia* Stephens (Figura 6). Descrita por Stephens (1926) a partir da informação de uma população de plantas situada numa restrita região montanhosa da África do Sul, esta espécie é portadora de características morfológicas inusitadas (Miranda *et al.*, 2005a) quando comparadas às das demais espécies do gênero. Tendo como base determinados caracteres morfológicos, Chrtek & Slavíková (1996) segregaram *Drosera regia* em novo gênero, *Freatulina regia* (Stephens) Chrtek *et* Slavíková, posicionamento não corroborado por determinados estudos filogenéticos (e.g. Cameron *et al.*, 2002; Miranda *et al.*, 2005b). Uma vez que *Drosera arcturi* Hook. (Figura 7), espécie restrita ao sudoeste da Austrália e Nova Zelândia, apresentou posicionamento basal em relação às demais espécies do gênero em estudo filogenético recente baseado no gene *rbcL* (Rivadavia *et al.*, 2003), o referido táxon também foi incluído no presente estudo. Dessa forma, em virtude da posição basal não corretamente definida e dos caracteres plesiomórficos presentes em *Drosera regia*, o minucioso conhecimento da biologia, bem como a identificação de seu posicionamento filogenético, são de extrema importância para a melhor compreensão da história evolutiva do gênero *Drosera*, assim como da família Droseraceae como um todo.

O presente estudo filogenético foi baseado em dados moleculares dos genes plastidiais *atpB*, *matK* e *rbcL*, assim como do gene 18S do DNA ribossomal nuclear, tendo como objeto de estudo representantes de Caryophyllales *s.l.*, dentre as quais sete espécies de Droseraceae (*Aldrovanda* (1), *Dionaea* (1), *Drosera* (5)), Frankeniaceae (1 sp.), Drosophyllaceae (1 sp.), Nepenthaceae (1 sp.), Ancistrocladaceae (1 sp.), Dioncophyllaceae (1 sp.), Plumbaginaceae (3 spp.) e Polygonaceae (2 spp.)). Dessa forma, por meio do emprego de quatro matrizes moleculares (três provenientes de genoma plastidial e uma do DNA ribossomal nuclear) e com o uso do método de Otimização Direta, o estudo teve como objetivos principais: (1) verificar a posição filogenética de Droseraceae dentro de Caryophyllales *s.l.*; (2) verificar as relações de *Aldrovanda*, *Dionaea* e *Drosera* e (3) identificar a posição de *Drosera* (*Freatulina*) *regia* em Droseraceae. O melhor conhecimento das relações filogenéticas representa não apenas importância taxonômica, mas pode também

prover elucidações acerca da história evolutiva das adaptações morfológicas relacionadas ao hábito carnívoro.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal e obtenção das seqüências – Foram empregados para o presente estudo 20 táxons distribuídos em 11 famílias de Caryophyllales *s.l.*, tendo como foco de estudo Droseraceae, representada por 7 espécies. Para o trabalho foi realizado o seqüenciamento para apenas dois táxons (*Drosera arcturi* e *D. tomentosa*), tendo as demais seqüências sido obtidas do GenBank (Tabela 1). Para a extração de DNA, foram utilizados 100 mg de tecido vegetal fresco ou 10-30 mg de tecido desidratado em sílica gel ou herborizado. O tecido foi exposto ao nitrogênio líquido e posteriormente macerado. Para a extração propriamente dita, foi empregado DNazol (Chomczynski *et al.*, 1997), seguindo-se o protocolo recomendado pelo fabricante (Molecular Research Center). O gene *matK* foi parcialmente amplificado, empregando os iniciadores matKDr1 (5'-AAGGGGTAAAAGTCGTAAAAG-3'), matKDr2 (5'-AGGGGTAAAAGTCGTAAAAG-3'), matKDr3 (5'-AGTAAAAGTCGTAAAAGGG-3') e matKDr4 (5'-AAAGTAGTAAAGTAAGGGC-3') desenvolvidos por V.O.F. de Miranda, M. Bacci Jr. & A. Furlan especificamente para Droseraceae. Os iniciadores matKDr foram desenvolvidos a partir de seqüências do gene *matK* de Droseraceae e Drosophyllaceae previamente depositados no GenBank (números de acesso AF204846 a AF204850). Foram realizadas reações de 25 µL, utilizando 25 ng de DNA genômico, 12 pmoles de cada iniciador, 0,5 U de *Taq* DNA polimerase, 2,5 µL de tampão 10X e uma concentração final de 8 mM de dNTPs (2 mM de cada dNTP) e 25 mM de MgCl₂. Como protocolo de amplificação foram efetuados 45 ciclos de 30 s a 94°C para a denaturação, 49°C por 30s para o anelamento, 70°C por 1 min para a extensão. As amostras amplificadas foram purificadas utilizando *GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit* (Amersham Pharmacia). As purificações foram realizadas diretamente da solução resultante das amplificações, bem como através da excisão das bandas em gel de agarose 1,5% resultantes de eletroforese. As reações de PCR de seqüenciamento foram realizadas em termociclador PTC-100 (MJ Research). Foram realizadas reações de 10 µL, contendo 2,5 µL de *ABI Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit* (Perkin Elmer Applied Biosystems), 2,5 pmoles de cada iniciador e 100 ng de cada amostra previamente amplificada. Os produtos das reações de seqüenciamento foram resolvidos e lidos por seqüenciador automático ABI 377 (Perkin Elmer Applied Biosystems). As fitas senso (5'→3') e anti-senso (3'→5') de cada amostra foram seqüenciadas. Cada seqüência obtida foi

checada através do alinhamento com a sua fita complementar. As seqüências (Apêndice I) foram checadas e manipuladas com o uso do aplicativo BioEdit versão 5.0.9 (Hall, 1999).

Métodos analíticos filogenéticos – As análises filogenéticas foram realizadas de acordo com o método de *Otimização Direta* (OD; Wheeler, 1996; Janies & Wheeler, 2002) com o emprego do aplicativo POY (Gladstein & Wheeler, 1996-2001). A OD propõe a reconstrução de uma hipótese filogenética (tendo como premissa a máxima parcimônia) diretamente baseada nas seqüências nucleotídicas, sem a necessidade de um alinhamento prévio como os demais métodos. A premissa da OD consiste em que *GAPs* não são entidades observáveis, enquanto que os *indels* (inserções ou deleções) são os processos causadores das diferenças de tamanho das seqüências (Wheeler, 1996). Assim, através do tratamento direto de *indels* como processos de transformação e a inferência de seqüências ancestrais, uma (ou mais) hipótese filogenética mais parcimoniosa é encontrada. Para o teste de sensibilidade das análises filogenéticas (Wheeler, 1995), foi empregada a combinação de dois parâmetros: o custo de *GAPs* e a relação entre transições:transversões. Esses dois parâmetros foram empregados em uma gradação de valores, de maneira a criar uma *matriz de sensibilidade* (chamada *espaço de análise* por Phillips *et al.* [2000]). Foram geradas hipóteses filogenéticas, assumindo como custo de *GAPs* os valores 1, 2, 3 e 4; da mesma forma, foi assumido como relação transições:transversões os valores 1:1, 2:1, 3:1 e 4:1. Cada partição de dados (18S, *atpB*, *matK* e *rbcL*) foi analisada isoladamente, assim como foi procedida uma análise combinada dos dados múltiplos (18S+*atpB*+*matK*+*rbcL*). O espaço de análise foi de 16 conjuntos de penalidades, como resultado de quatro variantes para cada parâmetro (4 x 4), sendo empregados para a análise filogenética de cada uma das partições de dados e análises combinadas (4 matrizes moleculares). As análises foram realizadas num *cluster* de 15 Athlon XP 2800+ (2 GHz e 512 Mb de RAM cada), conectados em paralelo e gerenciados pelo sistema PVM (Sunderam, 1990). Cada análise foi realizada com o POY (parâmetro *-parallel*) e com duas réplicas, armazenando cinco árvores mais parcimoniosas a cada réplica (*-maxtrees 5*). A matriz de custos foi especificada com o parâmetro “molecularmatrix” (*-molecularmatrix ‘gaptvts.txt’*). A congruência entre as partições de dados foi mensurada através da *Incongruence Length Difference* (ILD; Farris *et al.*, 1995; modificado por Wheeler, 1999), assim como foi escolhida a hipótese filogenética dos dados combinados a qual maximizou a congruência (Wheeler, 1995). O ILD pode ser calculado por meio da diferença entre o comprimento do cladograma resultante dos *dados combinados* e a soma dos

comprimentos dos cladogramas gerados a partir das matrizes isoladas: $ILD = (\text{comprimento}_{\text{DADOS COMBINADOS}} - \Sigma \text{comprimentos}_{\text{MATRIZES ISOLADAS}}) / \text{comprimento}_{\text{DADOS COMBINADOS}}$ (de acordo com a modificação proposta por Wheeler, 1999). A congruência dos caracteres é empregada assim como um critério de otimização para se escolher o conjunto de parâmetros que minimiza eventos de homoplasia entre os dados. Esse procedimento analítico, posterior à análise de sensibilidade, pode ser considerado como uma extensão da parcimônia; da mesma forma que a parcimônia procura minimizar as homoplasias e, conseqüentemente, os números de passos em um cladograma, a análise de congruência dos caracteres procura encontrar o conjunto de parâmetros que maximiza a congruência para todas as partições de dados (Wheeler, 1995; Edgecombe *et al.*, 2002). O resultado desta análise permite, dentro deste contexto analítico, escolher a hipótese filogenética mais corroborada pelos dados existentes. O suporte dos ramos foi inferido pelos índices de Bremer (*decay indices*; Bremer, 1988), estimados através do programa POY (Gladstein & Wheeler, 1996-2001), assim como também pelos *índices de sensibilidade*. Este índice está pela primeira vez sendo proposto e foi calculado por meio da comparação entre todos os cladogramas do espaço de análise (16 cladogramas, no caso), de acordo com a congruência topológica apresentada (Giribet & Wheeler, 1999). O suporte de cada clado será diretamente proporcional à sua presença nos cladogramas de todos parâmetros. Assim, o clado que estiver presente em todas as análises (16) terá o suporte de 100%; aquele que aparecer na metade dos cladogramas terá o suporte de 50%, e assim sucessivamente. Os cladogramas foram enraizados pelo método de grupo-externo, com o uso dos táxons *Amaranthus* (Amaranthaceae), *Portulaca* (Portulacaceae) e *Chenopodium* (Chenopodiaceae), de acordo com a disponibilidade das seqüências no GenBank (Tabela 1). Os táxons foram escolhidos baseando-se em estudos filogenéticos amplos de Caryophyllales (Fay *et al.*, 1997; Meimberg *et al.*, 2000; Cuénoud *et al.*, 2002). Quando mais de uma AMP (árvore mais parcimoniosa) foi encontrada para determinado parâmetro, foi então apresentado o cladograma de consenso estrito. Os cladogramas foram desenhados com o auxílio do programa TreeView (Page, 1996).

Tabela 1. Táxons e matrizes moleculares empregadas para o estudo filogenético. Os códigos são correspondentes ao GenBank (+ - seqüência obtida no presente estudo; hífen indicam seqüências não disponíveis).

Taxon	matK	rbcL	atpB	18S
Amaranthaceae				
<i>Amaranthus</i>	AY514809	AY270055	AJ235388	AH006866
Ancistrocladaceae				
<i>Ancistrocladus</i>	AF204839	Z97636	AF209526	AF206846
Chenopodiaceae				
<i>Chenopodium</i>	AF204864	AY270082	-	-
Dioncophyllaceae				
<i>Triphyphyllum peltatum</i>	AF204843	Z97637	AF209693	AF207049
Droseraceae				
<i>Aldrovanda vesiculosa</i>	AY096120	AB072550	AY096108	AB072557
<i>Dionaea muscipula</i>	AF204847	L01904	AY096112	AB072558
<i>Drosera adelae</i>	AY096121	AY096107	AY096109	AY096117
<i>Drosera arcturi</i> *	+	AB072512	-	AB072565
<i>Drosera capensis</i>	AY096122	L01909	AY096110	U42532
<i>Drosera regia</i>	AF204848	L01914	AY096111	AB072566
<i>Drosera tomentosa</i> *	+	AB072536	-	AB072562
Drosophyllaceae				
<i>Drosophyllum lusitanicum</i>	AF204846	L01907	AY096113	AB072556
Frankeniaceae				
<i>Frankenia</i>	AF204862	Z97638	AJ235476	AF206914
Nepenthaceae				
<i>Nepenthes</i>	AF204834	L01936	AJ235542	U42787
Plumbaginaceae				
<i>Armeria</i>	AY042548	Z97640	-	-
<i>Limonium</i>	AY042610	Z97645	AF209620	AF206953
<i>Plumbago</i>	AF204857	M77701	AJ235565	U42795
Polygonaceae				
<i>Polygonum</i>	AY042635	AJ235789	AJ235569	D29779
<i>Rheum</i>	AF204860	AF297147	AJ235581	AF094558
Portulacaceae				
<i>Portulaca</i>	AF204867	M62568	AF209659	AF207000

* *Vouchers* números VM856 e VM215 para *Drosera arcturi* e *D. tomentosa*, respectivamente, depositados no Herbário Rioclarense (HRCB) da Universidade Estadual Paulista (Unesp – Rio Claro).

RESULTADOS

Análise de sensibilidade – Foram realizadas 16 análises filogenéticas com diferentes parâmetros de custos para cada uma das matrizes de dados (*matK*, *rbcL*, *atpB* e 18S), além de terem sido realizadas análises das quatro matrizes combinadas (*matK* + *rbcL* + *atpB* + 18S). Esse tipo de análise só foi permitido graças à estrutura computacional adequada, um *cluster* de 15 nós representados por Athlon XP 2800+ (2 GHz e 512 Mb de RAM) cada um e em atividade paralela. Cada análise filogenética levou algumas horas para a sua finalização; assim, considerando um total de 80 análises filogenéticas (16 análises para as 5 matrizes: *matK*, *rbcL*, *atpB*, 18S e análise combinada), a realização completa das buscas das árvores mais parcimoniosas levou menos de 10 dias de processo computacional. Apesar de parecer muito tempo despendido, uma única análise realizada num PC Pentium II, com as especificações próximas as das empregadas no presente estudo, chegou a quase 30 dias de análise contínua (dados não demonstrados). De todos os parâmetros empregados nas análises, os parâmetros 411 (análise 13; Tabela 2) foram os que resultaram maior incongruência dos dados, resultando em um ILD de 0,0432. Por outro lado, os parâmetros que maximizaram a congruência das hipóteses filogenéticas, ou seja, minimizaram os eventos de homoplasia para cada uma das matrizes (Wheeler, 1995), foram os da análise 2 (*GAPs* = 1, transversões = 2 e transições = 1), tendo o menor valor de ILD (0,0269; Tabela 2). Dessa forma, considerando a análise de sensibilidade como uma extensão da parcimônia com o intuito de identificar o conjunto de parâmetros que minimizem os eventos de homoplasia para uma análise múltipla de dados (Wheeler, 1995; Edgecombe *et al.*, 2002), os parâmetros 121 foram os que resultaram em maior congruência dos dados. Assim, nesse estudo, as hipóteses filogenéticas obtidas com esses custos foram as escolhidas para o decorrer das discussões (Figuras 1 e 2).

Análises filogenéticas – Os cladogramas demonstrados na Figura 1 apresentam as hipóteses filogenéticas para cada uma das matrizes isoladas com os parâmetros de custo 121. Os cladogramas não apresentam o mesmo número de terminais devido à não disponibilidade de determinadas seqüências (*Armeria*, *Chenopodium*, *Drosera arcturi* e *D. tomentosa*; Tabela 1). Entretanto, considerando a elevada representatividade dos táxons e das seqüências para cada um deles, acredita-se que esse fato não tenha interferido de maneira significativa para a elaboração das hipóteses filogenéticas. *Chenopodium* e *Armeria* foram os únicos que apresentaram duas matrizes (ausência de *atpB* e 18S); porém, como foram

empregados como grupo-externo e um terceiro táxon (*Portulaca*), com as quatro matrizes disponíveis, foi também utilizado para essa função, os resultados não foram alterados. Como prova foi realizada análise das matrizes combinadas com os três referidos táxons como grupo-externo (Figura 2) e com apenas *Portulaca*, o qual se apresenta para as quatro matrizes. Porém, os dois cladogramas apresentaram a mesma topologia (dados não demonstrados). A análise combinada (Figura 2) apresenta Droseraceae como grupo-irmão de Nepenthaceae, ambos grupos num clado mais inclusivo suportado por IS (índice de sensibilidade) de 88 e ID (índice de Bremer) de 14. A monofilia da família Droseraceae é evidenciada para as quatro análises isoladas com elevado suporte (ID entre 16 e 55; barras espessas, Figura 1); porém, para a análise combinada (*matK*, *rbcL*, *atpB* e 18S; Figura 2), está representada por um clado com baixo suporte estatístico. Das quatro análises isoladas, apenas as dos genes 18S e *atpB* corroboram a monofilia de *Drosera* (Figura 1). O clado *Drosera arcturi*-*D. regia* é demonstrado como grupo-irmão de *Aldrovanda*-*Dionaea* para o gene *matK*, enquanto que *Drosera regia* apresenta-se como grupo-irmão de *Aldrovanda* para o *rbcL* (Figura 1). Por outro lado, *Drosera adelae*, *D. capensis* e *D. tomentosa* constituem um clado bem suportado estatisticamente (IS=100, ID=115; Figura 2). Dentro de Droseraceae, nota-se de maneira geral que *Aldrovanda* e *Dionaea* apresentam posições basais, como verificado em estudos filogenéticos prévios (Rivadavia *et al.*, 2003; Miranda *et al.*, 2005b).

Tabela 2. Comprimento dos cladogramas resultantes de análises de matrizes individuais (*matK*, *rbcL*, *atpB* e 18S), da análise das matrizes combinadas (TOTAL: *matK* + *rbcL* + *atpB* + 18S) assim como o valor do ILD para cada parâmetro de custo. N indica o número da análise (espaço de análise = 16), tendo como parâmetro de custo inicial 111 (*GAPs* = 1, transversões = 1, transições = 1) até 441 (*GAPs* = 4, transversões = 4, transições = 1).

N	CUSTO	matK	rbcL	atpB	18S	TOTAL	ILD
1	111	1269	798	718	403	3287	0,0301
2	121	1824	1164	978	518	4608	0,0269
3	131	2205	1447	1174	583	5575	0,0298
4	141	2218	1449	1175	585	5619	0,0342
5	211	1328	798	736	458	3436	0,0338
6	221	1907	1165	997	579	4796	0,0309
7	231	2462	1532	1258	696	6140	0,0313
8	241	3033	1897	1518	809	7550	0,0388
9	311	1386	798	754	508	3581	0,0377
10	321	1984	1165	1015	633	4947	0,0303
11	331	2526	1532	1276	754	6302	0,0340
12	341	3082	1897	1537	871	7619	0,0305
13	411	1444	798	772	551	3726	0,0432
14	421	2011	1165	1033	688	5107	0,0411
15	431	2602	1532	1294	809	6435	0,0308
16	441	3141	1897	1555	924	7789	0,0349

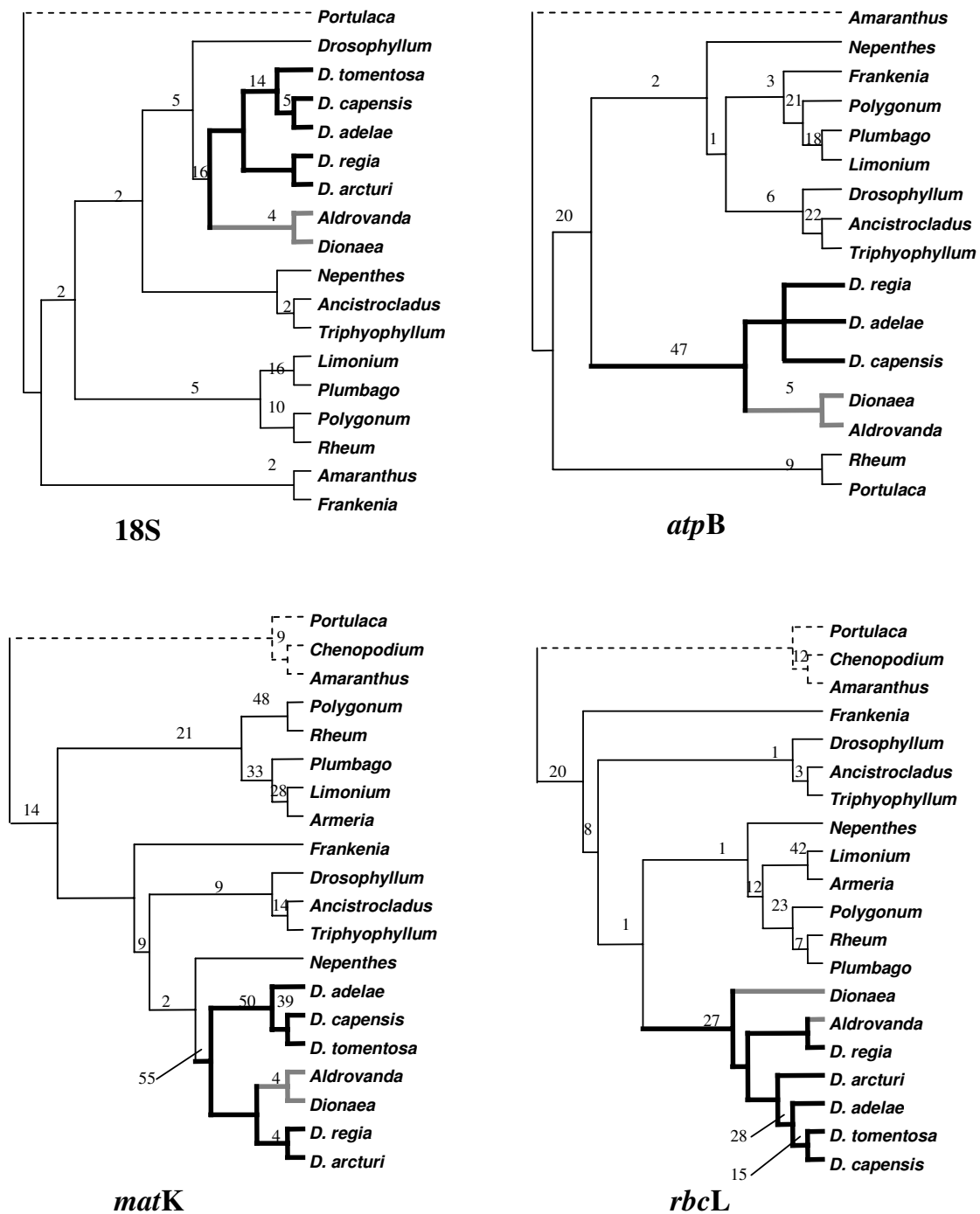


Figura 1. Cladogramas mais parcimoniosos resultantes das análises com matrizes moleculares isoladas (18S, *atpB*, *matK* e *rbcL*) com pesagem 121 (*gaps*:transversões:transições). Os cladogramas 18S (IC=0,23; IR=0,72), *matK* (IC=0,19; IR=0,72) e *rbcL* (IC=0,20; IR=0,71) representam a única AMP encontrada para cada uma das três matrizes, enquanto que *atpB* (IC=0,24; IR=0,70) representa o consenso estrito de três árvores mais parcimoniosas. Os valores acima dos ramos indicam o índice de Bremer (Bremer, 1988) (AMP – árvore mais parcimoniosa; D. – *Drosera*; IC – índice de consistência; IR – índice de retenção; ramos com linhas pontilhadas representam o grupo-externo).

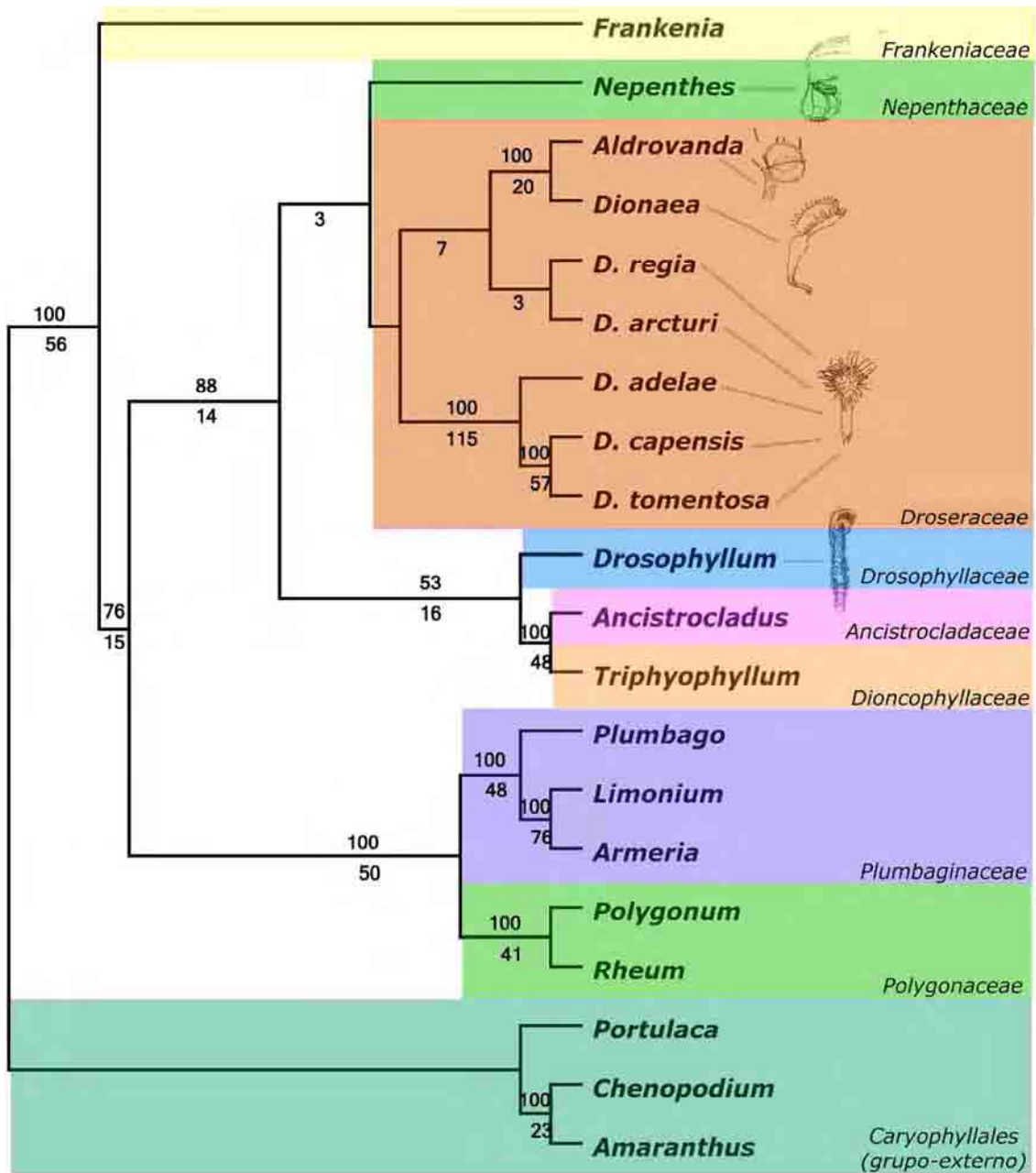


Figura 2. Cladograma único mais parcimonioso (4.608 passos) resultante de análise com matrizes moleculares combinadas (18S, *atpB*, *matK* e *rbcL*) com pesagem 121 (IC=0,20; IR=0,70). Os valores abaixo dos ramos indicam os índices de Bremer (Bremer, 1988) e os acima os índices de sensibilidade, estes representando a proporção de ocorrência de cada clado nos 16 cladogramas do espaço de análise (D. – *Drosera*; IC – índice de consistência; IR – índice de retenção. As ilustrações foliares não respeitam suas devidas proporções.).

DISCUSSÃO

Taxonomia e relações filogenéticas de Droseraceae – As espécies *Aldrovanda vesiculosa* e *Dionaea muscipula* quase sempre foram mantidas na família Droseraceae, considerando as classificações mais tradicionais (e.g. Diels, 1906; Cronquist, 1981). Apesar de determinados autores terem defendido a segregação em famílias monotípicas, Aldrovandaceae e Dionaeaceae, baseando em caracteres morfológicos como tipos de armadilhas (Small, 1933; Nakai, 1949; Chrtek *et al.*, 1989), essa visão não angariou muito adeptos. Do ponto de vista filogenético, de acordo com a hipótese filogenética obtida pelo estudo apresentado (Figura 2), as famílias Aldrovandaceae e Dionaeaceae não são suportadas, uma vez que implicariam na parafilia de Droseraceae. Por outro lado, diversas são as características morfológicas (sejam baseadas nos órgãos vegetativos, como as folhas, quanto nos reprodutivos, como os caracteres florais) que suportam *Dionaea* (Figura 5) e *Aldrovanda* (Figura 4) em Droseraceae (Diels, 1906; Miranda *et al.*, 2005a). Ainda assim, se forem colimados o reconhecimento de nomes não redundantes (táxons não monotípicos) e a sua correlação com clados cada vez mais inclusivos, não havendo o desmerecimento do padrão hierárquico (Cantino *et al.*, 1997), a aplicação de Aldrovandaceae e Dionaeaceae torna-se dispensável. Diversos estudos filogenéticos amplos reconhecem a monofilia de Droseraceae, contendo *Aldrovanda-Dionaea-Drosera* spp., desde estudos envolvendo caracteres morfológicos a moleculares (e.g. Albert *et al.*, 1992; APG, 1998; 2003; Meimberg *et al.*, 2000; Cuénoud *et al.*, 2002).

Evolução dos mecanismos de captura – O clado que inclui Nepenthaceae (Figura 10), Droseraceae, Drosophyllaceae (Figura 9), Ancistrocladaceae e Dioncophyllaceae (Figura 2) é demonstrado em diversos estudos filogenéticos (*non-core* Caryophyllales *sensu* Cuénoud *et al.*, 2002), assim como a monofilia de Droseraceae é demonstrada com elevada confiança estatística (e.g. Meimberg *et al.*, 2000; Cuénoud *et al.*, 2002). Essa hipótese filogenética corrobora a tese de a carnivoría ter surgido num único evento na história evolutiva de Caryophyllales, provavelmente tendo o hábito sido perdido completamente para Ancistrocladaceae e parcialmente para Dioncophyllaceae (Meimberg *et al.*, 2000). *Triphyophyllum peltatum* (Dioncophyllaceae), espécie endêmica do oeste da África, apresenta folhas adaptadas à carnivoría apenas na fase juvenil (Cuénoud *et al.*, 2002),

característica talvez herdada de um ancestral que apresentava folhas carnívoras em fase adulta. Ancistrocladaceae, família representada por gênero único (*Ancistrocladus*) com espécies distribuídas na África (13 espécies) e sudeste asiático (cerca de 7 espécies), por sua vez, é provável que tenha perdido o hábito carnívoro. O clado *Drosophyllum-Ancistrocladus-Triphyphyllum* é também suportado por estudos filogenéticos moleculares prévios (e.g. Meimberg *et al.*, 2000; Cameron *et al.*, 2002; Cuénoud *et al.*, 2002), apresentando como sinapomorfia morfológica a circinação reversa das folhas. O clado Ancistrocladaceae-Dioncophyllaceae (Figura 2) é suportado também por sinapomorfia bioquímica, sendo as duas famílias produtoras exclusivas de naftilisoquinolinas (Bringmann & Pokorny, 1995; Bringmann *et al.*, 1998). Alcalóides do tipo naftilisoquinolina têm instigado muito interesse em virtude de suas propriedades terapêuticas relacionadas ao paludismo ou mesmo SIDA (e.g. François *et al.*, 1997; Hallock *et al.*, 1998).

Os caracteres compartilhados pelas espécies monotípicas *Aldrovanda vesiculosa* e *Dionaea muscipula* há tempos desperta a atenção de estudiosos. As armadilhas modificadas do tipo ratoeira (*snap traps*) com seus intrincados mecanismos, folhas exestipuladas (Miranda *et al.*, 2005a; 2005b), tipos de glândulas e tricomas-gatilho (Juniper *et al.*, 1989; Seine & Barthlott, 1993; Miranda *et al.*, 2005a), emergências não-glandulares (Seine & Barthlott, 1993; Miranda *et al.*, 2005b), óvulos e sementes (Boesewinkel, 1989; Miranda *et al.*, 2005a), são exemplos de possíveis sinapomorfias para *Aldrovanda* e *Dionaea*. Miranda *et al.* (2005a) descrevem a presença de ápice apiculado em plântulas de *Dionaea muscipula*, característica, entretanto, ausente nas plantas adultas. Curiosamente, *Aldrovanda vesiculosa* demonstra a mesma característica em plântulas e plantas adultas. É provável que *Dionaea* tenha perdido esse caráter para a fase adulta, representando assim uma sinapomorfia morfológica para o clado *Aldrovanda-Dionaea* (Figura 2). Cameron *et al.* (2002) defendem a monofilia de *Aldrovanda-Dionaea*, estudo baseado em dados morfológicos e nos genes *matK*, *rbcL*, *atpB* e 18S. O cladograma da análise combinada das mesmas quatro seqüências nucleotídicas apresentadas nesse estudo (Figura 2) demonstra o clado *Aldrovanda-Dionaea* com elevado suporte (IS=100, ID=20), corroborando a hipótese de homologia das armadilhas tipo ratoeira (Cameron *et al.*, 2002).

Juniper *et al.* (1989) sugerem a possível evolução de armadilhas do tipo adesiva, talvez de possíveis ancestrais que apresentassem movimentos rápidos das emergências em resposta a estímulos de presas (como ocorre em *Drosera burmanni*) para as armadilhas do tipo ratoeira. Para que isso tivesse ocorrido, é provável que a linhagem

ancestral fosse desprovida de emergências foliares glandulares (relatado em *Drosera* por Seine & Barthlott, 1993). A adicional especialização do limbo foliar para uma cavidade digestiva é provável que tenha originado a pre-*Dionaea* (como designada por Juniper *et al.*, 1989). Algumas características morfológicas foliares evidenciam a relação entre *Dionaea* e *Drosera*, como o padrão geniculado de circinação das folhas (Miranda *et al.*, 2005a), a presença de tricomas glandulares sésseis similares no limbo foliar assim como o padrão de venação foliar (Juniper *et al.*, 1989; Seine & Barthlott, 1993). O hábito aquático (talvez precedido pela tolerância a ambientes submersos) observado para *Aldrovanda* deve ter sido um evento secundário, talvez posterior ao desenvolvimento da intrincada armadilha do tipo ratoeira (Figura 3). Schlauer (1997) também sugere a divergência dos mecanismos das armadilhas-ratoeira a partir de, possivelmente, uma armadilha precursora do tipo adesiva, mas não necessariamente como as de *Drosera* atuais.

O gênero *Freatulina* e a monofilia de *Drosera* – Muitas espécies de *Drosera* (aproximadamente 40 spp.) foram descritas após a monografia de Diels (1906). Algumas delas, entretanto, não puderam ser colocadas adequadamente nos táxons subgenéricos descritos, tendo a classificação sido motivo de controvérsias (Seine & Barthlott, 1994). Dentre essas espécies, provavelmente *Drosera regia* Stephens é a que tem levantado mais discussões (Figura 6). Stephens (1926) descreveu *D. regia* e a posicionou na seção *Psychophila* Planch. Obermeyer (1970), observando as características não típicas como caule lenhoso e estiletos indivisos, alegou que a espécie não se adequava a nenhuma das seções propostas por Diels (1906). Seine & Barthlott (1994), por sua vez, baseados em caracteres do hábito, florais e palinológicos, postularam o subgênero *Regiae* Seine & Barthlott como tentativa de acomodar a espécie e segregar a mesma das demais *Drosera*. Dois anos depois, Chrtek & Slavíková (1996) elevaram *Drosera regia* ao *status* de gênero, estabelecendo assim *Freatulina regia* (Stephens) Chrtek *et* Slavíková. Para a segregação da espécie em seu gênero próprio, os autores se basearam nas características não presentes nas demais *Drosera*, como caule lenhoso, pólen operculado (Takahashi & Soma, 1982), assim como a presença de estiletos inteiros e longos (apesar dessa característica não ser exclusiva de *Drosera regia*, presente também em outras seções como *Bryastrum* e *Thelocalyx*). Apesar dos diversos estudos filogenéticos de Droseraceae que incluíram *Drosera regia*, as relações filogenéticas da espécie ainda são controvertidas. Os estudos de maneira geral concordam com a posição basal de *D. regia*, porém são incoerentes quanto à identificação do grupo-irmão da espécie e

sua relação com *Aldrovanda* e *Dionaea* (Albert *et al.*, 1992; Williams *et al.*, 1994; Meimberg *et al.*, 2000; Cameron *et al.*, 2002; Rivadavia *et al.*, 2003; Miranda *et al.*, 2005b). A análise apresentada pelo presente estudo não demonstra a monofilia de *Drosera* (Figura 2). *Drosera regia* e *D. arcturi* formam clado que se apresenta como grupo-irmão do clado *Aldrovanda-Dionaea*. Assim, apesar do baixo suporte do clado *Aldrovanda-Dionaea-Drosera regia-Drosera arcturi* (IS<50 e ID=7; Figura 2), ambas espécies de *Drosera* comprometem a monofilia do gênero. As demais *Drosera* amostradas (*D. adelae*, *D. capensis* e *D. tomentosa*) formam outro grupo monofilético, irmão do clado citado, altamente suportado estatisticamente (IS=100 e ID=115; Figura 2). A presença de *Drosera arcturi* como grupo-irmão de *Drosera regia* é curiosa. *Drosera arcturi* (Figura 7) ocorre no sudoeste da Austrália, Nova Zelândia e Tasmânia (Allan, 1982; Lowrie, 1998), tratando-se de uma espécie pouco estudada. Enquanto Planchon (1848) segregou a espécie na seção monotípica *Arcturia*, Diels (1906) reconheceu-a como pertencente à seção *Psychophila* (postura também adotada por Marchant *et al.* [1982]), junto com *Drosera uniflora* e *D. stenopetala* (Figura 11), por compartilhar características com estas últimas como folhas exestipuladas ou estípulas inconspícuas, eixos da inflorescência geralmente curtos e unifloros (ou raramente com mais de uma flor). Rivadavia *et al.* (2003), através de análise filogenética do gene *rbcL* e 18S, demonstraram a posição basal da espécie, refutando a proximidade a *Drosera uniflora* e *D. stenopetala*. O presente estudo, ao analisar o genes 18S e *matK*, suporta *Drosera arcturi* e *D. regia* como grupos-irmãos (Figura 1). Entretanto, a análise de Rivadavia *et al.* (2003) não corrobora o clado *Drosera arcturi-D. regia*.

Análise filogenética recente de Droseraceae, baseada no gene *matK* e também no espaçador *trnK-matK*, também corrobora o clado *Aldrovanda-Dionaea-Drosera regia* (nesse estudo não foi incluída *Drosera arcturi* [San Martín, 2003; L. Adamec, com. pessoal]). A hipótese filogenética resultante de análise de caracteres morfológicos apresentada por Miranda *et al.* (2005b) suporta o clado *Aldrovanda-Dionaea-Drosera regia*. Dessa forma, para se buscar a monofilia de *Drosera*, é necessário que o gênero *Freatulina* seja de fato reconhecido. Entretanto, a mera elevação de *Drosera regia* para *Freatulina regia*, por si, não resolve a parafilia do gênero. Se for utilizado como base o estudo filogenético presente, uma alternativa poderia ser também a elevação de *Drosera arcturi* para *Freatulina*, estabelecendo assim o gênero com duas espécies (*Freatulina regia* e *Freatulina arcturi*). Chrtek & Slavíková (1996) circunscrevem o gênero *Freatulina* por características incomuns às demais *Drosera* spp., como a presença de caule lenhoso, pólen operculado e estiles longos

e indivisos (observados em *Drosera regia*). *Drosera arcturi*, por sua vez, apresenta caule herbáceo, sendo que nenhum estudo polínico foi até o presente realizado para a espécie. Quanto ao gineceu, apresenta três estiletes (podendo ocorrer quatro) inteiros (ou raramente divididos desde a base, como citado por Allan [1982]), padrão típico do encontrado em *Drosera (Freatulina) regia*. O gineceu formado por três estiletes indivisos para ambas espécies, assim como a presença folhas com bainhas (características ausentes para *Drosera uniflora* e *D. stenopetala*) são caracteres que corroboram o clado *Drosera regia-D. arcturi* (Figura 2), assim como a circunscrição do gênero *Freatulina*.

Se o objetivo for a busca de um sistema taxonômico que preserve a monofilia dos táxons (Wiley, 1979; de Queiroz & Gauthier, 1990; 1992; 1994), Droseraceae deve apresentar quatro gêneros: *Aldrovanda*, *Dionaea*, *Freatulina* e *Drosera*, sendo os dois primeiros monotípicos, o terceiro portador de duas espécies (*Freatulina arcturi* e *F. regia*) e o último portador da maior parte das espécies da família. Apesar do problema de redundância taxonômica para com *Aldrovanda* e *Dionaea* (problema intrínseco da taxonomia, porém não exclusivo desta, presente também no sistema filogenético [de Queiroz & Gauthier, 1992]), os táxons propostos apresentam características diagnósticas suficientes para as suas devidas circunscrições genéricas.

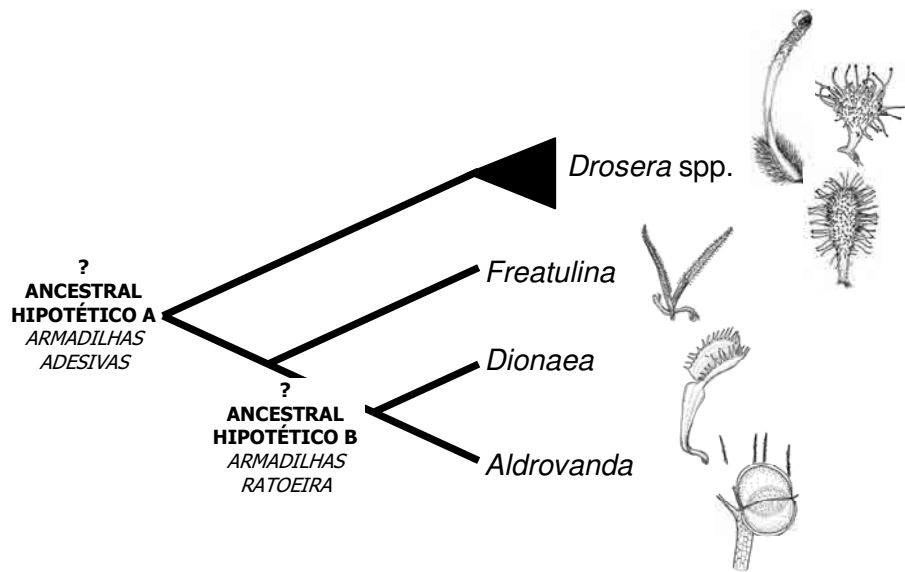


Figura 3. Hipótese evolutiva para o padrão de diversificação e adaptações foliares em Droseraceae. Ancestral hipotético A representa a linhagem pretérita de Droseraceae o qual apresentava, possivelmente, folhas modificadas com emergências glandulares talvez similares às encontradas nas *Drosera* atuais. Ancestral hipotético B representa a possível linhagem ancestral de *Dionaea* e *Aldrovanda*, detentora do arquétipo de armadilhas do tipo ratoeira (*snap traps*). (As figuras não respeitam suas devidas proporções.)



Figura 4. *Aldrovanda vesiculosa* (Droseraceae). **Figura 5.** *Dionaea muscipula* (Droseraceae). **Figura 6.** *Drosera regia* (Droseraceae). **Figura 7.** *Drosera arcturi* (Droseraceae). **Figura 8.** *Drosera tomentosa* (Droseraceae) (Fonte: 4-7: L.Adamec; 8: V.F.O.Miranda).



Figura 9. *Drosophyllum lusitanicum* (Drosophyllaceae). **Figura 10.** *Nepenthes mira* (Nepenthaceae). **Figura 11.** *Drosera stenopetala* (Droseraceae) (Fonte: 9: M. Porto; 10-11: L. Adamec).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adamec, L. Mineral nutrition of carnivorous plants: a review. *The Botanical Review*, v.63(3), p.273-299, 1997.
- Albert, V. A., Williams, S. E. & Chase, M. W. Carnivorous plants: phylogeny and structural evolution. *Science*, v.257, p.1491-1495, 1992.
- Allan, H. H. *Flora of New Zealand: Indigenous Tracheophyta*. Vol. I. Wellington: P. D. Hasselberg, Government Printer, 1982.
- APG - The Angiosperm Phylogeny Group. An ordinal classification for the families of flowering plants. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, v.85(4), p.531-553, 1998.
- APG - The Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.141, p.399-436, 2003.
- Behre, K. Physiologische und zytologische Untersuchungen über *Drosera*. *Planta*, v.7, p.208-306, 1929.
- Boesewinkel, F.D. Ovule and seed development in Droseraceae. *Acta Botanica Neerlandica*, v.38, p.295-311, 1989.
- Breckpot, C. *Aldrovanda vesiculosa*: description, distribution, ecology and cultivation. *Carnivorous Plants Newsletter*, v.26, p.73-82, 1997.
- Bremer, K. The limits of amino acid sequence data in angiosperm phylogenetic reconstruction. *Evolution*, v.42, p.795- 803, 1988.
- Bringmann, G. & Pokorny, F. In: G. A. Cordell. *The alkaloids*, vol. 46. New York: Academic Press. 1995.
- Bringmann, G.; Wohlfarth, M.; Rischer, H.; Rückert, M. & Schlauer, J. The polyketide folding mode in the biogenesis of isoshinanolone and plumbagin in *Ancistrocladus heyneanus* (Ancistrocladaceae). *Tetrahedron Lett.*, vol. 39, 8445-8448, 1998.
- Cameron, K. M.; Wurdack, K. J.; Jobson, R. W. Molecular evidence for the common origin of snap-traps among carnivorous plants. *American Journal of Botany*, v.89(2), p.1503-1509, 2002.
- Cantino, P. D.; Olmstead, R. G. & Wagstaff, S. J. A comparison of phylogenetic nomenclature with the current system: a botanical case study. *Syst. Biol.*, v.46(2), p.313-331, 1997.

- Chomczynski, P., Mackey K., Drews R. & Wilfing, W. DNAzol: A reagent for the rapid isolation of genomic DNA. *BioTechniques*, v.22, p.550-553, 1997.
- Chrtek, J.; Slavíková, Z. & Studnicka, M. Contribution to petal venation of selected carnivorous plants. *Preslia*, v.61, p.107-124, 1989.
- Chrtek, J. & Slavíková, Z. Comments on the families Droseraceae and Drosophyllaceae. *Casopis Narodního Muzea Rada Prirodovedna*, v.165(1-4), p.139-141, 1996.
- Conran, J. G., Jaudzems, V.G. & Hallam, N. D. Droseraceae germination patterns and their taxonomic significance. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.123, p.211-223, 1997.
- Cronquist, A. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University Press, 1981. p.374-376.
- Cuénoud, P.; Savolainen, V.; Chatrou, L. W.; Powell, M.; Grayer, R. J. & Chase, M. W. Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid *rbcL*, *atpB* and *matK* DNA sequences. *American Journal of Botany*, v.89(1), p.132-144, 2002.
- Darwin, C. R. *Insectivorous Plants*. New York: D. Appleton and Company, 1896.
- Diels, L. *Drosera*. In: Engler, A. *Das Pflanzenreich*. Leipzig: Wilhelm Engelmann. p.61-128, 1906.
- Edgecombe, G. D., Giribet, G. & Wheeler, W. C. Phylogeny of Henicopidae (Chilopoda: Lithobiomorpha): a combined analysis of morphology and five molecular loci. *Systematic Entomology*, v.27, p.31-64, 2002.
- Farris, J. S., Källersjö, M., Kluge, A. G. & Bult, C. Testing significance of incongruence. *Cladistics*, v.10, p.315-319, 1995.
- Fay, M. F., Cameron, K. M., Prance, G. T., Lledó, M. D. & Chase, M. W. Familial relationships of *Rhabdodendron* (Rhabdodendraceae): plastid *rbcL* sequences indicate a Caryophyllid placement. *Kew Bull.*, v.52, p.923-932, 1997.
- François, G.; Timperman, G.; Eling, W.; Assi, L. A.; Holenz, J. & Bringmann, G. Naphthylisoquinoline alkaloids against malaria: evaluation of the curative potentials of dioncophylline C and dioncopeltine A against *Plasmodium berghei* *in vivo*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, v.41(11), p.2533-2539, 1997.
- Giribet, G. & Wheeler, W.C. On gaps. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v.13(1), p.132-143, 1999.
- Gladstein, D. & Wheeler, W. C. POY: Phylogeny reconstruction via optimization of DNA data. American Museum of Natural History, New York, EUA, 1996-2001. Programa e manual disponíveis em: <[ftp://ftp.amnh.org/pub/molecular/poy/](http://ftp.amnh.org/pub/molecular/poy/)>.

- Hall, T.A., BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp.* Ser. 41, p.95-98, 1999.
- Hallock, Y. F.; Cardellina, J. H.; Schäffer, M.; Bringmann, G.; François, G. & Boyd, M. R. Korundamine A, a novel HIV-inhibitory and antimalarial “hybrid” naphthylisoquinoline alkaloid heterodimer from *Ancistrocladus korupensis*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.(8):13, p.1729-1734, 1998.
- Janies, D. A. & Wheeler, W. C. Theory and practice of parallel direct optimization. In: DeSalle, R., Giribet, G. & Wheeler, W. C. (Ed.) *Molecular Systematics and Evolution: Theory and Practice*. Basel: Birkhäuser Verlag, 2002. p.115-123.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A. & Stevens, P. F. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, EUA, 1999.
- Juniper, B. E., Robins, R. J. & Joel, D. M. *The carnivorous plants*. Oxford: Academic Press, 1989.
- Kundu, S. R.; Basu, S. & Chakraverty, R. K. *Aldrovanda vesiculosa* Linn. – it’s maiden appearance and disappearance from India: a review. *J.Econ.Tax.Bot.*, v.20(3), p.716-724, 1996.
- Lledo, M. D., Crespo, M. B., Cameron, K. M., Fay, M. F. & Chase, M. W. Systematics of Plumbaginaceae based upon analysis of *rbcL* sequence data. *Syst. Bot.*, v.23(1), p.21-29, 1998.
- Lloyd, F. E. *The carnivorous plants*. Chronica Botanica Co., Waltham, Mass. 1942.
- Lowrie, A. *Carnivorous Plants of Australia*. University of Western Australia Press, Perth. v.3, 1998.
- Marchant, N. G., Aston, H. I. & George, A. S. Droseraceae. *Flora of Australia* v.8, p.9-64, 1982.
- Meimberg, H., Dittrich, P., Bringmann, G., Schlauer, J. & Heubl, G. Molecular phylogeny of Caryophyllidae *s.l.* based on *matK* sequences with special emphasis on carnivorous taxa. *Plant Biology*, v.2(2), p.218-228, 2000.
- Miranda, V. F. O. & Sajo, M. G. Aspectos morfo-anatômicos de três espécies de *Drosera* durante o desenvolvimento pós-seminal. *Acta Botanica Brasilica*, v.14(2), p.185-195, 2000.
- Miranda, V. F. O., Furlan, A. & Bacci Jr., M. A comparative analysis of Droseraceae Salisb. and Drosophyllaceae Chrtek, Slavíková *et* Studnicka: morphology, ontogeny and distribution with systematic implications. *Annals of Botany*, 2005a (submetido)

- Miranda, V. F. O., Furlan, A.; Bacci Jr., M. & Martins, V. G. Phylogenetic relationships of Droseraceae based on morphological data and ITS rDNA sequences. *Plant Syst. Evol.*, 2005b (submetido).
- Nakai, T. Classes, Ordines, Familiae, Subfamiliae, Tribus, Genera nov quae attinet ad plantas Koreanas. *Journal of Japanese Botany*, v.24, p.8-14, 1949.
- Obermeyer, A. A. *Droseraceae*. In: Codd, L. E., De Winter, B., Killick, D. J. B. & Rycroft, H. B. (Ed.) *Flora of Southern Africa*. Pretoria: The Government Printer, v.13, 1970.
- Page, R. D. M. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*, v.12, p.357-358, 1996.
- Pennisi, E. Elaborate carnivorous plants prove to be kin. *Science*, v.297, p.1626, 2002.
- Phillips, A., Janies, D. & Wheeler, W. Multiple sequence alignment in phylogenetic analysis. *Mol. Biol. Evol.*, v.16(3), p. 317-330, 2000.
- Planchon, M. J. E. Sur la famille des Droseracees – Revisio Systematica Droseracearum. *Ann. Sci. Nat. Bot. Ser. 9*, p.185-207, 1848.
- Plukenet, L. *Almagestum botanicum*. Innys, London. 402 p., 1696.
- de Queiroz, K. & Gauthier, K. Phylogeny as a central principle in taxonomy: phylogenetic definitions of taxon names. *Syst. Zool.*, v.39(4), p.307-322, 1990.
- de Queiroz, K. & Gauthier, K. Phylogenetic taxonomy. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, v.23, p.449-80, 1992.
- de Queiroz, K. & Gauthier, K. Toward a phylogenetic system of biological nomenclature. *Tree*, v.9(1), p.27-31, 1994.
- Rivadavia, F.; Kondo, K.; Kato, M. & Hasebe, M. Phylogeny of the sundews, *Drosera* (Droseraceae), based on chloroplast *rbcL* and nuclear 18S ribosomal DNA sequences. *American Journal of Botany*, v.90(1), p.123-130, 2003.
- San Martín, A. P. M. Study of the genetic diversity and phylogenetic position of *Aldrovanda vesiculosa* L. (Droseraceae). *Report of results – thesis*, Charles University, Czech Academy of Sciences, 2003.
- San Martín, A. P. M.; Adamec, L.; Suda, J.; Mes, T. H. M. & Storchová, H. Genetic variation within the endangered species *Aldrovanda vesiculosa* (Droseraceae) as revealed by RAPD analysis. *Aquatic Botany*, v.75, p.159-172, 2003.
- Saridakis, D. P.; Torezan, J. M. D. & Andrade, G. Microhabitat preferences of six *Drosera* (Droseraceae) from Tibagi river basin, Paraná state, Brazil. *Braz. arch. biol. technol.*, v.47, n.4, p.495-501, 2004.

- Schlauer, J. "New" data relating to the evolution and phylogeny of some carnivorous plant families. *Carnivorous Plants Newsletter*, v.27(4), p.110-113, 1997.
- Seine, R. & Barthlott, W. On the morphology of trichomes and tentacles of Droseraceae Salisb. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, v.67, p.345-366, 1993.
- Seine, R. & Barthlott, W. Some proposals on the infrageneric classification of *Drosera* L. *Taxon*, v.43, p.583-589, 1994.
- Small, J. K. Flora of the southeastern United States. (Publicado pelo autor) New York, EUA, 1933.
- Stephens, E. L. A new sundew, *Drosera regia* (Stephens), from the Cape Province. *Trans. Roy. Soc. South Africa*, v.8, p.309-312, 1926.
- Sunderam, V. S. PVM: A framework for parallel distributed computing. *Journal of Concurrency: Practice and Experience*, v.2(4), p. 315-339, 1990.
- Takahashi, H. & Sohma, K. Pollen morphology of the Droseraceae and its related taxa. *Sci. Rep. Tohoku Univ. 4 ser Biol.*, v.38, p.81-156, 1982.
- Vilkonis, K. K. *Aldrovanda vesiculosa* (Droseraceae) in Lithuania. *Botanicheskii-Zhurnal* (St.-Petersburg). v.88(8): 56-58, 2003.
- Wheeler, W. C. Sequence alignment, parameter sensitivity, and the phylogenetic analysis of molecular data. *Syst. Biol.*, v.44, p.321-331, 1995.
- Wheeler, W. C. Optimization alignment: the end of multiple sequence alignment in phylogenetics? *Cladistics*, v.12, p.1-9, 1996.
- Wheeler, W. C. Measuring topological congruence by extending character techniques. *Cladistics*, v.15, p.131-135, 1999.
- Wiley, E. O. An annotated linnaean hierarchy, with comments on natural taxa and competing systems. *Systematic Zoology*, v.28, p.308-337, 1979.
- Williams, S. E., Albert, V. A. & Chase, M. W. Relationships of Droseraceae: A cladistic analysis of *rbcL* sequence and morphological data. *American Journal of Botany*, v.81(8), p.1027-1037, 1994.
- Williams, S.E. Comparative sensory physiology of the Droseraceae - the evolution of a plant sensory system. *Proc. Amer. Phil. Soc.*, v.120(3), p.187-204, 1976.

APÊNDICE I

CAPÍTULO 2

FILOGENIA E BIOGEOGRAFIA DE DROSERACEAE BASEADAS NA ANÁLISE DE DADOS MORFOLÓGICOS E MOLECULARES

FILOGENIA E BIOGEOGRAFIA DE DROSERACEAE BASEADAS NA ANÁLISE DE DADOS MORFOLÓGICOS E MOLECULARES

Resumo: O trabalho demonstra a análise filogenética de 90 espécies de Droseraceae representadas pelos gêneros *Aldrovanda*, *Dionaea* e *Drosera*. Foram representados três subgêneros e nove seções do gênero *Drosera*. Para a análise foram empregados o gene *matK* (DNA plastidial) e a região ITS do DNA nuclear ribossomal. Foram analisados também 61 caracteres morfo-anatômicos, parte deles obtida em estudos prévios. Através do método filogenético de otimização direta e com a análise de sensibilidade e o emprego de diversos parâmetros de custos de substituições (16 parâmetros diferentes), foi buscada a hipótese filogenética que minimizou a incongruência das diversas matrizes de dados (*matK*, região ITS e morfologia). De acordo com a hipótese encontrada pela análise combinada (*matK*+ITS+morfologia), *Aldrovanda* e *Dionaea* são grupos basais quando comparados a *Drosera*. A hipótese filogenética demonstra a parafilia de diversos táxons infragêneros de *Drosera* (e.g. sec. *Drosera*, sec. *Ergaleium*, sec. *Lasiocephala*), indicando a necessidade de novos arranjos taxonômicos. O cladograma de áreas resultante da análise BPA (*Brooks Analysis Parsimony*) não apresenta um padrão gondwânico típico, assim outros eventos históricos devem ter ocorrido (como dispersão à longa distância) para a definição do padrão de distribuição atual de Droseraceae.

INTRODUÇÃO

A família Droseraceae Salisb. está representada por aproximadamente 130 espécies reunidas taxonomicamente em quatro gêneros, sendo *Dionaea* Ellis (Figura 9), *Aldrovanda* L. (Figura 8) e *Drosophyllum* Link monotípicos, enquanto que o gênero *Drosera* L. compreende a maior parte das espécies da família (Diels, 1906; Cronquist, 1981, Juniper *et al.*, 1989; Judd *et al.*, 1999; Figuras 10-19). Entretanto, caracteres morfológicos não corroboram a inclusão de *Drosophyllum lusitanicum* (L.) Link (espécie subarabustiva, perene, nativa do norte de Marrocos e sul de Portugal e Espanha) em Droseraceae. Esses caracteres incluem: placentação basal, presença de câmbio funcional, circinação reversa das folhas, anatomia das glândulas secretoras de mucilagem, localizadas na face abaxial das folhas, mecanismo passivo de captura de presas (Diels, 1906; Juniper *et al.* 1989; Miranda *et al.*, 2005a), pólen (Takahashi & Sohma, 1982), padrão de germinação das sementes (Conran *et al.*, 1997; Miranda *et al.*, 2005a), além de dados citogenéticos (Behre, 1929). Estudos filogenéticos baseados no sequenciamento do gene *rbcL* (Williams *et al.* 1994; Fay *et al.* 1997; Lledo *et al.*, 1998) e *matK* (Meimberg *et al.*, 2000; Cuénoud *et al.*, 2002) também não sustentam que esta espécie deva ser integrante da família Droseraceae. *Drosophyllum* está filogeneticamente mais próximo de Ancistrocladaceae e Dioncophyllaceae do que de Droseraceae (Fay *et al.* 1997; Lledo *et al.*, 1998; Meimberg *et al.*, 2000; Miranda *et al.*, em

preparação). Dessa forma, a exclusão do gênero *Drosophyllum* para a família monotípica Drosophyllaceae Chrtek & Studnicka (Chrtek & Studnicka, 1989) é sustentada não só por dados morfológicos, mas também por dados moleculares.

Apesar da taxonomia vegetal ter se diversificado muito nas últimas décadas, abrangendo novas fontes de dados como a citogenética, palinologia, padrões de germinação e seqüências de DNA, a classificação infragenérica de *Drosera* ainda é sujeita a muitas controvérsias (Diels, 1906; DeBuhr, 1977; Marchant *et al.*, 1982; Seine & Barthlott, 1994; Rivadavia *et al.*, 2003; Miranda *et al.*, 2005b). As classificações propostas são conflitantes e estudos filogenéticos têm demonstrado que os táxons infragenéricos de *Drosera* não são monofiléticos (Rivadavia *et al.*, 2003; Miranda *et al.*, 2005b). Historicamente, os caracteres mais utilizados para a taxonomia de *Drosera* têm sido o hábito, forma foliar, número e morfologia dos estiletos, presença ou ausência de estípulas (Miranda *et al.*, 2005a) e órgãos especializados como tubérculos e propágulos (De Candolle, 1824; Planchon, 1848; Diels, 1906). Importantes dados citogenéticos para Droseraceae (revisitos por Schlauer, 1987), bem como estudos palinológicos (Takahashi & Sohma, 1982), foram de grande relevância para a compreensão da filogenia e classificação infragenérica de *Drosera*. Estudos mais recentes têm indicado novas evidências úteis à taxonomia do grupo, incluindo informações fitoquímicas (Culham & Gornall, 1994), morfologia de tricomas (Seine & Barthlott, 1993; Länger *et al.* 1995; Miranda & Sajo, 2000; Miranda *et al.*, 2005a), bem como informações sobre os tipos de germinação (Conran *et al.*, 1997; Miranda & Sajo, 2000; Miranda *et al.*, 2005a). Dados moleculares têm sido amplamente utilizados na reconstrução de filogenias de grupos vegetais (*e.g.* APG, 1998, 2003). Isso se deve à impressionante quantidade de caracteres variáveis os quais podem ser utilizados para a identificação, classificação e reconstrução filogenética, uma vez que cada nucleotídeo pode variar entre indivíduos, populações ou, até mesmo, entre níveis taxonômicos superiores (Doyle, 1992). Nesse contexto, a utilização do seqüenciamento de DNA para estudos filogenéticos tem contribuído consideravelmente para a compreensão da filogenia de Droseraceae (*e.g.* Meimberg *et al.*, 2000; Rivadavia *et al.*, 2003; Miranda *et al.*, 2005b; Miranda *et al.*, em preparação), assim como outras famílias.

Porém, são poucos os estudos disponíveis sobre a filogenia de Droseraceae utilizando dados moleculares. Alguns estudos empregaram o gene cloroplasmático *rbcL*, codificador da subunidade maior da enzima ribulose 1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Albert *et al.*, 1992; Williams *et al.*, 1994; Rivadavia *et al.*, 2003). Miranda *et al.* (2005b), recentemente, utilizaram o seqüenciamento da região ITS do DNA nuclear ribossomal para as

inferências filogenéticas de Droseraceae. Os estudos de Albert *et al.* (1992) e Williams *et al.* (1994) demonstraram a monofilia de Droseraceae, com a provável exclusão de *Drosophyllum*. Da mesma forma, foi demonstrado que o gênero *Drosera* é monofilético (Miranda *et al.*, 2005b), com a possível exclusão de *Drosera regia* (Williams *et al.*, 1994). Entretanto, estudo filogenético recente baseado em dados moleculares múltiplos (Miranda *et al.*, em preparação) demonstrou que *Drosera* é parafilético se consideradas as espécies *D. regia* e *D. arcturi*.

O presente estudo filogenético foi baseado em dados morfológicos e moleculares (região ITS do rDNA nuclear e gene *matK* do DNA cloroplasmático), tendo como objetivos (1) estabelecer as relações filogenéticas das espécies de Droseraceae, (2) reconhecer os táxons monofiléticos genéricos e infragenéricos e (3) discutir os eventos históricos relacionados ao padrão de distribuição biogeográfica do grupo. O trabalho propõe um estudo altamente representativo para Droseraceae, considerando caracteres nunca levantados de maneira tão abrangente para a família (sejam morfológicos ou moleculares), além do exame dos parâmetros de análise em relação às topologias resultantes (análise de sensibilidade).

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal – Foram empregados para o presente estudo 90 táxons de Droseraceae. O material para o estudo das espécies brasileiras foi obtido através de coleta em campo, assim como também foram requisitados espécimes de coleções vivas internacionais (principalmente de pesquisadores e colecionadores), material este recebido na forma de espécimes (inteiros ou parciais) desidratados. Com esse material foram realizadas as extrações de DNA bem como as análises morfológicas. Parte do material foi obtida também de espécies cultivadas na estufa de plantas carnívoras da Universidade Estadual Paulista, Rio Claro (Tabela 1). Os materiais testemunhos (*vouchers*) foram depositados no Herbário Rioclarense (HRCB).

Extração de DNA – Para a extração de DNA, foram utilizados 100 mg de tecido vegetal fresco ou 10-30 mg de tecido desidratado em sílica gel ou herborizado. O tecido foi exposto ao nitrogênio líquido e posteriormente macerado. Para a extração propriamente dita, foi empregado DNazol (Chomczynski *et al.*, 1997), seguindo-se o protocolo recomendado pelo fabricante (Molecular Research Center). Os resultados demonstraram que tecido fresco ainda é a melhor alternativa para as extrações. Tecido desidratado (em estufa ou sílica gel) ou mesmo herborizado, proveniente de exsiccatas, resultam em DNA com maior concentração de resíduos (provavelmente compostos fenólicos) do que aqueles resultantes de tecido fresco. Esse fator tende a dificultar o processo de amplificação gênica, como apontaram nossos resultados. Com o intuito de transpor essa dificuldade, foram empregadas quantidades de tecido extremamente reduzidas de tecido desidratado (em alguns casos chegando a 10 mg, equivalente a 1/10 de tecido fresco). Esse procedimento trouxe resultados satisfatórios, medidos pelo sucesso das amplificações.

Amplificação dos espaçadores ITS1 e ITS2 do DNA nuclear ribossomal

- Os iniciadores ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') e ITS4 (5'-TCCTTCCGCTTATTGATATGC-3') foram empregados para a amplificação da região ITS (ITS1-5,8S-ITS2; ~800 pb) e com a utilização dos iniciadores internos ITS3 (5'-GCATCGATGAAGAACGCAGC-3') e ITS2 (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') foram amplificados os espaçadores propriamente ditos (ITS1 e ITS2, ~300 pb cada; White *et al.*, 1990). As reações de amplificação foram realizadas com o emprego de reagentes separadamente (*Taq* DNA polimerase, nucleotídeos, MgCl₂, solução tampão), incluindo nas

reações os adjuvantes dimetilsulfóxido (DMSO) e soro-albumina bovina (BSA), como recomendado por Miranda *et al.* (2004). As reações de amplificação foram realizadas em termociclador PTC-100 (MJ Research), seguindo o protocolo otimizado por Miranda *et al.* (2004). A purificação das amostras foi realizada como descrita abaixo para o gene *matK*.

Amplificação do gene *matK* do DNA plastidial - O gene *matK* foi parcialmente amplificado, empregando os iniciadores matKDr1 (5'-AAGGGGTAAAAGTCGTAAAAG-3'), matKDr2 (5'-AGGGGTAAAAGTCGTAAAAG-3'), matKDr3 (5'-AGTAAAAGTCGTAAAAGGG-3') e matKDr4 (5'-AAAGTAGTAAAGTAAGGGC-3') desenvolvidos por V.O.F. de Miranda, M. Bacci Jr. & A. Furlan especificamente para Droseraceae. Os iniciadores matKDr foram desenvolvidos a partir de seqüências do gene *matK* de Droseraceae e Drosophyllaceae previamente depositados no GenBank (números de acesso AF204846 ao AF204850). Foram realizadas reações de 25 µL, utilizando 25 ng de DNA genômico, 12 pmoles de cada iniciador, 0,5 U de *Taq* DNA polimerase, 2,5 µL de tampão 10X e uma concentração final de 8 mM de dNTPs (2 mM de cada dNTP) e 25 mM de MgCl₂. Como protocolo de amplificação foram efetuados 45 ciclos de 30s a 94°C para a denaturação, 49°C por 30s para o anelamento, 70°C por 1 min para a extensão. As amostras amplificadas foram purificadas utilizando *GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit* (Amersham Pharmacia). As purificações foram realizadas diretamente da solução resultante das amplificações, bem como através da excisão das bandas em gel de agarose 1,5% resultantes de eletroforese. Os resultados demonstraram o relativo sucesso do emprego dos iniciadores para a amplificação do gene *matK* de Droseraceae. Os iniciadores matKDr1 e matKDr2 produziram fragmentos de aproximadamente 900 pares de bases e, com a utilização dos iniciadores internos matKDr3 e matKDr4, foram produzidas seqüências de aproximadamente 450 pares de bases.

Seqüenciamento - As reações de PCR de seqüenciamento foram realizadas em termociclador PTC-100 (MJ Research). Foram realizadas reações de 10 µL, contendo 2,5 µL de *ABI Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit* (Perkin Elmer Applied Biosystems), 2,5 pmoles de cada iniciador e 100 ng de cada amostra previamente amplificada (região ITS ou *matK*). Os produtos das reações de seqüenciamento foram resolvidos e lidos por seqüenciador automático ABI 377 (Perkin Elmer Applied Biosystems). Foram seqüenciadas as fitas senso (5'→3') e anti-senso (3'→5') de cada amostra. Cada seqüência obtida foi

checada através do alinhamento com a sua fita complementar. As seqüências foram checadas e manipuladas com o auxílio do aplicativo BioEdit versão 5.0.9 (Hall, 1999). (Todas as seqüências estão no Apêndice II.)

Estudos morfológicos - Foram estudados caracteres morfológicos de órgãos vegetativos e reprodutivos. Os caracteres foram levantados com o uso de fotomicroscópio (marca Zeiss) e microscópio estereoscópico (marca Olympus). Foram empregados os 54 caracteres previamente levantados por Miranda *et al.* (2005a; b), assim como foram incluídos 7 novos, totalizando 61 caracteres (Tabela 2). Os dados morfológicos foram codificados numa matriz como caracteres binários e multi-estados, todos não-ordenados, para a posterior análise filogenética. Determinados caracteres de algumas espécies não puderam ser determinados, por motivo de material incompleto ou mesmo falta dele. A matriz de caracteres morfológicos foi gerada com o emprego do programa NDE versão 0.5.0 (Page, 2001).

Tabela 1. Números de *voucher*, distribuição das espécies e correspondência com os dados levantados para cada matriz. As espécies estão agrupadas de acordo com a classificação infragênica de Seine & Barthlott (1994).

Taxon	<i>Voucher</i> ¹	Distribuição ²	MORFO ³	ITS ³	<i>mark</i> ³
Droseraceae					
<i>Aldrovanda</i> L.					
<i>A. vesiculosa</i> L.	VM209	Europa, Ásia, África, Austrália	*	*	AY096120
<i>Dionaea</i> Ellis					
<i>D. muscipula</i> Ellis	VM208	Estados Unidos	*	*	AF204847
<i>Drosera</i> L.					
Subgen. <i>Drosera</i>					
Sec. <i>Drosera</i>					
<i>D. adeltae</i> F.Muell.	VM852	Norte da Austrália	+	+	AY096121
<i>D. affinis</i> Welw. ex Oliv.	VM1590	África	+	+	+
<i>D. alba</i> Phill.	VM287	Sul da África	+	+	+
<i>D. aliciae</i> Hamet	VM1240	Sul da África	+	+	AF204849
<i>D. anglica</i> Huds	VM185	Europa, Norte da América da Norte	*	*	+
<i>D. arcturi</i> Hook.	VM856	Austrália, Nova Zelândia	+	+	+
<i>D. ascendens</i> St. Hil.	VM261	Brasil	+	+	+
<i>D. brevifolia</i> Pursh.	VM186	Américas do Norte, Central e do Sul	*	*	+
<i>D. burkeana</i> Planch.	VM311	África, Madagascar	+	+	+
<i>D. camporupensis</i> F.Rivadavia	VM1564	Brasil	+	+	+
<i>D. capensis</i> L.	VM188	África do Sul	*	*	AF204850
<i>D. cayennensis</i> Sagot ex Diels	VM1430	América do Sul	+	+	+
<i>D. capillaris</i> Poir.	VM207, VM250	Américas do Norte, Central e do Sul	*	*	AF204850
<i>D. chrysolepis</i> Taubert	VM59, VM61, VM210	América do Sul	*	*	+
<i>D. collinstae</i> N.E.Br.	VM211	África do Sul	*	*	+

Tabela 1. Números de *voucher*, distribuição das espécies e correspondência com os dados levantados para cada matriz. As espécies estão agrupadas de acordo com a classificação infragênica de Seine & Barthlott (1994) (*continuação*).

Taxon	<i>Voucher</i> ¹	Distribuição ²	MORFO ³	ITS ³	<i>mark</i> ³
<i>D. communis</i> St.Hil.	VM214	América do Sul	*	*	AY042579
<i>D. cuneifolia</i> L.	VM1244	Sul da África	+	+	+
<i>D. dielsiana</i> Exell & Laundon	VM212	Sudeste da África	*	*	+
<i>D. felix</i> Steyerl. & L.B.Smith	VM262	Venezuela	+	+	+
<i>D. filiformis</i> Raf.	VM213	Costa Atlântica da América do Norte	*	*	+
<i>D. graminifolia</i> St.Hil.	VM228	Brasil	*	*	+
<i>D. grantsau</i> F.Rivadavia	VM1674	Brasil	+	+	+
<i>D. graomogolensis</i> T. Silva	F.R.Lopes s/n	Brasil	*	*	+
<i>D. hamiltonii</i> C.R.P.Andrews	VM860	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. hartmeyerorum</i> Schläuer	VM270	Norte da Austrália	+	+	+
<i>D. hilaris</i> Cham. & Schlechtid.	VM1241	Sul da África	+	+	+
<i>D. hirtella</i> St.Hil.	VM177	Brasil	*	*	+
<i>D. indica</i> L.	VM227	Ásia, África, Austrália	*	*	+
<i>D. intermedia</i> Hayne	VM225	Américas do Norte, Central e do Sul e Europa	+	+	+
<i>D. madagascariensis</i> DC.	VM189	África, Madagascar	*	*	+
<i>D. montana</i> St.Hil. var. <i>montana</i>	VM53, VM54, VM224	América do Sul	*	*	+
<i>D. montana</i> var. <i>schwackei</i> Diels	F.R.Lopes s/n	Brasil	+	+	+
<i>D. montana</i> var. <i>tomentosa</i> (St.Hil.) Diels	VM215	Brasil	*	*	+
<i>D. natalensis</i> Diels	VM223	África	*	*	+
<i>D. nidiformis</i> P. Debbert	VM195	África do Sul	*	*	+
<i>D. pumila</i> E.Santos	VM1103	Brasil	+	+	+
<i>D. ramentacea</i> Burch. ex DC.	VM1235	África	+	+	+
<i>D. roraimae</i> (Klotzsch ex Diels) Maguire & Laundon	VM265	Brasil, Guiana, Venezuela	+	+	+

Tabela 1. Números de *voucher*, distribuição das espécies e correspondência com os dados levantados para cada matriz. As espécies estão agrupadas de acordo com a classificação infragênica de Seine & Barthlott (1994) (*continuação*).

Taxon	Voucher ¹	Distribuição ²	MORFO ³	ITS ³	mark ³
<i>D. rotundifolia</i> L.	VM272	América do Norte, Europa, Ásia	+	+	+
<i>D. schizandra</i> Diels	VM1457	Austrália	+	+	+
<i>D. spathulata</i> Labill.	VM1246	Ásia, Sudeste da Austrália, Nova Zelândia, Tasmânia, Indonésia	+	+	+
<i>D. stenopetala</i> Hook.	VM862	Nova Zelândia	+	+	+
<i>D. tentaculata</i> F.Rivadavia	VM1278	Brasil	+	+	+
<i>D. trinervia</i> Spreng.	VM902	Sul da África	+	+	+
<i>D. uniflora</i> Willd.	F.R.Lopes s/n	Sul da Argentina e do Chile, Ilhas Falklands	+	+	+
<i>D. villosa</i> St.Hil.	L.Freitas & I.San Martin-Gajardo s/n; F.R.Lopes s/n	Brasil	*	*	+
<i>D. viridis</i> F.Rivadavia	VM1239	Brasil	+	+	+
Sec. <i>Thelocalyx</i> Planch.					
<i>D. burmanni</i> Vahl	VM85, VM187	Ásia, Austrália, Indonésia	*	*	+
<i>D. sessifolia</i> St.Hil.	VM216, VM217	Brasil, Venezuela, Guiana Inglesa	*	*	+
Sec. <i>Coelophylla</i> Planch.					
<i>D. glanduligera</i> Lehmann	VM950	Austrália, Tasmânia	+	+	+
Sec. <i>Lasiocephala</i> Planch.					
<i>D. caduca</i> A. Lowrie	VM1247	Norte e noroeste da Austrália	+	+	+
<i>D. falconeri</i> Tsang ex Kondo	VM268	Noroeste da Austrália	+	+	+
<i>D. lanata</i> Kondo	VM964	Norte da Austrália	+	+	+
<i>D. ordensis</i> Lowrie	VM263	Norte da Austrália	*	*	+
<i>D. petiolaris</i> R.Br. ex DC.	VM198	Norte da Austrália	+	+	+

Tabela 1. Números de *voucher*, distribuição das espécies e correspondência com os dados levantados para cada matriz. As espécies estão agrupadas de acordo com a classificação infragenérica de Seine & Barthlott (1994) (*continuação*).

Taxon	<i>Voucher</i> ¹	Distribuição ²	MORFO ³	ITS ³	mark ³
Sec. <i>Bryastrum</i> Planch.					
<i>D. androsacea</i> Diels	VM1211	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. callistos</i> N. Marchant & Lowrie	VM965	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. dichrosepala</i> Turcz.	VM1224	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. enodes</i> N. Marchant & Lowrie	VM269	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. ericksoniae</i> N. Marchant & Lowrie	VM264	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. hyperostigma</i> N. Marchant & Lowrie	VM267	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. leucoblata</i> Benth.	VM1435	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. mannii</i> Cheek	VM s/n	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. miniata</i> Diels	VM1433	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. nitidula</i> Planch.	VM271	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. occidentalis</i> Morr.	VM290	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. paleacea</i> DC.	VM967	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. platystigma</i> Diels	VM1236	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. pulchella</i> Lehm.	VM281	Sudoeste da Austrália	*	*	+
<i>D. pygmaea</i> DC.	VM280	SO e SE Austrália, Nova Zelândia, Tasmânia	+	+	+
<i>D. scorioides</i> Planch.	VM969	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. sewelliae</i> Diels	VM310	Sudoeste da Austrália	+	+	+
Sec. <i>Ptycnostigma</i> Planch.					
<i>D. cistiflora</i> L.	F.R.Lopes s/n	Sul da África	+	+	+
<i>D. pauciflora</i> Banks. ex DC.	F.R.Lopes s/n	Sul da África	+	+	+
Subgen. <i>Ergaleium</i> (DC.) Drude					
Sec. <i>Ergaleium</i>					

Tabela 1. Números de *voucher*, distribuição das espécies e correspondência com os dados levantados para cada matriz. As espécies estão agrupadas de acordo com a classificação infragênica de Seine & Barthlott (1994) (*continuação*).

Taxon	Voucher ¹	Distribuição ²	MORFO ³	ITS ³	matK ³
<i>D. auriculata</i> Backh. ex Planch.	VM1578	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. bulbigena</i> Morr.	VM1581	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. gigantea</i> Lindl.	VM971	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. heterophylla</i> Lindl.	VM1589	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. macrantha</i> Endl.	VM980	Sul da Austrália, Tasmânia	+	+	+
<i>D. microphylla</i> Endl.	VM1532	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. modesta</i> Diels	VM1499	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. peltaia</i> Smith	VM980	Sul da Austrália, Ásia, Indonésia, Tasmânia	+	+	+
<i>D. subhirtella</i> Planch.	VM1458	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. thysanosepala</i> Diels	VM1558	Sudoeste da Austrália	+	+	+
Sec. <i>Stoloniferae</i> (Planch.) DeBuhr					
<i>D. stolonifera</i> Endl.	VM1249	Sudoeste da Austrália	+	+	+
Sec. <i>Erythrorrhizae</i> (Planch.) Diels					
<i>D. erythrorrhiza</i> Lindl.	VM1248	Sudoeste da Austrália	+	+	+
<i>D. macrophylla</i> Lindl.	VM1250	Sudoeste da Austrália	+	+	+
Subgen. <i>Regiae</i> R. Seine & Barthlott					
<i>D. regia</i> Stephens	VM218, VM219	África do Sul	*	*	AF204848
Drosophyllaceae					
<i>Drosophyllum</i> Link					
<i>D. lusitanicum</i> (L.) Link	VM220, VM222	Espanha, Portugal, Marrocos	*	*	AF204846

¹ VM: prefixo de V. F. O. de Miranda.

² De acordo com Diels, 1906; Stephens, 1926; Wynne, 1944; Obermeyer, 1970; Juniper *et al.*, 1989; Lowrie, 1989; 1994; 1996a, b; 1997; Debbert, 1991; Laundon & Basto, 1993; Silva & Giulietti, 1997; Sorrie, 1998.

³ MORFO - matriz de caracteres morfológicos; ITS - seqüências da região ITS do DNA ribossomal; matK - seqüências parciais do gene plastidial da enzima maturase K.

+ Dados obtidos (sequenciamento de DNA ou análise morfológica) pelo presente estudo.

* Dados obtidos por Miranda *et al.* (2005a; b).

Tabela 2. Lista dos caracteres morfo-anatômicos e seus estados de Droseraceae analisados e empregados para as análises filogenéticas.

<i>Cod.</i>	<i>Caráter e estados</i>
1.	Hábito: (0) roseta; (1) ereto-caulescente.
2.	Caulescente: (0) monopodial; (1) simpodial.
3.	Heterofilia: (0) ausente; (1) presente.
4.	Tricomas-gatilho: (0) ausentes; (1) presentes.
5.	Pecíolo: (0) não-evidente (<comp.lâmina); (1) evidente (>comp.lâmina).
6.	Base do pecíolo: (0) não-dilatada; (1) dilatada; (2) em forma de bainha.
7.	Forma do pecíolo em corte transversal: (0) globoso; (1) semicircular; (2) elíptico; (3) plano.
8.	Pecíolo: n ^o . de feixes vasculares: (0) três; (1) cinco; (2) um.
9.	Pecíolo: tricomas tectores: (0) ausentes; (1) presentes.
10.	Pecíolo: tricomas glandulares sésseis: (0) ausentes; (1) presentes.
11.	Pecíolo: tricomas glandulares pedunculados: (0) ausentes; (1) presentes.
12.	Forma da lâmina foliar: (0) circular; (1) elíptica a obovada; (2) linear.
13.	Estípula: (0) ausente; (1) presente.
14.	Estípula: forma: (0) triangular com ápice fimbriado; (1) retangular fimbriada; (2) trífida com ápice central fimbriado; (3) trífida fimbriada; (4) adnada segmentada.
15.	Limbo foliar: tricomas tectores na face adaxial: (0) ausentes; (1) presentes.
16.	Limbo foliar: tricomas glandulares sésseis na face adaxial: (0) ausentes; (1) presentes.
17.	Limbo foliar: tricomas glandulares pedunculados na face adaxial: (0) ausentes; (1) presentes.
18.	Limbo foliar: tricomas tectores na face abaxial: (0) ausentes; (1) presentes.
19.	Limbo foliar: tricomas glandulares sésseis na face abaxial: (0) ausentes; (1) presentes.
20.	Limbo foliar: tricomas glandulares pedunculados na face abaxial: (0) ausentes; (1) presentes.
21.	Emergências não-glandulares: (0) ausentes; (1) presentes.
22.	Tipo de emergências glandulares: (0) radialmente simétricas no limbo e na margem; (1) radialmente simétricas no limbo e bilateralmente simétricas na margem.
23.	Prefoliação: (0) circinada; (1) circinada reversa; (2) geniculada; (3) inteira (tipo sessilifolia).
24.	Ciclo de vida: (0) anual; (1) perene.
25.	Tipo de inflorescência: (0) cimeira escorpióide; (1) cimeira cincino; (2) racemo; (3) pedúnculo floral unifloro.
26.	Eixo da inflorescência: cilindro vascular: (0) ausente; (1) presente.
27.	Eixo da inflorescência: tricomas tectores na base: (0) ausentes; (1) presentes.
28.	Eixo da inflorescência: tricomas glandulares sésseis na base: (0) ausentes; (1) presentes.
29.	Eixo da inflorescência: tricomas glandulares pedunculados na base: (0) ausentes; (1) presentes.
30.	Eixo da inflorescência: tricomas tectores no ápice: (0) ausentes; (1) presentes.
31.	Eixo da inflorescência: tricomas glandulares sésseis no ápice: (0) ausentes; (1) presentes.
32.	Eixo da inflorescência: tricomas glandulares pedunculados no ápice: (0) ausentes; (1) presentes.
33.	Eixo da inflorescência: tricomas tectores filamentosos na base: (0) ausentes; (1) presentes.
34.	Sépalas: tricomas tectores: (0) ausentes; (1) presentes.
35.	Sépalas: tricomas glandulares: (0) ausentes; (1) presentes.
36.	Brácteas no pedúnculo floral: (0) ausentes; (1) presentes.
37.	Brácteas no pedúnculo floral: fímbrias na base: (0) ausentes; (1) presentes.
38.	Ovário: n ^o . de carpelos: (0) três; (1) cinco.
39.	Ovário: tipo de placentação: (0) basal; (1) parietal.
40.	Estames: número: (0) 5; (1) 10-20 – diferentes alturas; (2) 15 (10-20) – mesma altura.
41.	Estames: forma do filete: (0) laminar ou levemente achatado; (1) filiforme.
42.	Estiletos: forma: (0) inteiros livres; (1) bipartidos; (2) multipartidos; (3) unidos.
43.	Estiletos: número: (0) 3; (1) 4; (2) 5.
44.	Estigmas: forma: (0) clavados a bilabiados; (1) bifidos ou trífidos; (2) penicelados.
45.	Pólen: (0) mônades; (1) tétrades.
46.	Pólen: número de poros: (0) um poro; (1) três poros; (2) 10-18 poros; (3) 20-30 poros; (4) poliporado (ca. 40 poros).
47.	Pólen: opérculo: (0) ausente; (1) presente.
48.	Forma da semente: (0) obovada; (1) oblonga; (2) elíptica.
49.	Semente: sulco longitudinal: (0) ausente; (1) presente.
50.	Testa: (0) lisa; (1) papilosa; (2) reticulada; (3) levemente reticulada; (4) com cristas.
51.	Germinação: tipo: (0) fanerocotiledonar; (1) criptocotiledonar; (2) tipo anglica.
52.	Plântula: filotaxia: (0) alterna; (1) oposta; (2) verticilada.

Tabela 2. Lista dos caracteres morfo-anatômicos e seus estados de Droseraceae analisados e empregados para as análises filogenéticas (*continuação*).

<i>Cod.</i>	<i>Caráter e estados</i>
53.	Plântula: pecíolo: (0) evidente; (1) não-evidente.
54.	Cotilédones: tricomas glandulares sésseis: (0) ausentes; (1) presentes.
55.	Pecíolo: tricomas glandulares sésseis: (0) ausentes; (1) presentes.
56.	Folhas 1 ^{árias} . carnívoras: (0) ausentes; (1) presentes.
57.	Plântula: tricomas glandulares sésseis nas folhas 1 ^{árias} e 2 ^{árias} : (0) ausentes; (1) presentes.
58.	Emergências glandulares nas folhas 1 ^{árias} e 2 ^{árias} : (0) ausentes; (1) presentes.
59.	Emergências nas folhas 1 ^{árias} e 2 ^{árias} : (0) radialmente simétricas na margem e no limbo; (1) bilateralmente simétricas na margem e radialmente simétricas no limbo.
60.	Propagação vegetativa por meio de gêmulas: (0) ausente; (1) presente.
61.	Propagação vegetativa por meio de bulbos: (0) ausente; (1) presente.

Métodos analíticos filogenéticos – As análises filogenéticas foram realizadas de acordo com o método de *Otimização Direta* (OD; Wheeler, 1996; Janies & Wheeler, 2002) com o emprego do aplicativo POY (Gladstein & Wheeler, 1996-2001). A OD propõe a reconstrução de uma hipótese filogenética (tendo como premissa a máxima parcimônia) diretamente baseada nas seqüências nucleotídicas, sem a necessidade de um alinhamento prévio como os demais métodos. A premissa da OD consiste em que *GAPs* não são entidades observáveis, enquanto que os *indels* (inserções ou deleções) são os processos causadores das diferenças de tamanho das seqüências (Wheeler, 1996). Assim, através do tratamento direto de *indels* como processos de transformação e a inferência de seqüências ancestrais, uma (ou mais) hipótese filogenética mais parcimoniosa é encontrada. Para o teste de sensibilidade das análises filogenéticas (Wheeler, 1995), foi empregada a combinação de dois parâmetros: o custo de *GAPs* e a relação entre transições:transversões. Esses dois parâmetros foram empregados em uma gradação de valores, de maneira a criar uma *matriz de sensibilidade* (chamada *espaço de análise* por Phillips *et al.* [2000]). Foram geradas hipóteses filogenéticas, assumindo como custo de *GAPs* os valores 1, 2, 3 e 4; da mesma forma, foi assumido como relação transições:transversões os valores 1:1, 2:1, 3:1 e 4:1. Cada partição de dados (morfologia, ITS e *matK*) foi analisada isoladamente, assim como foi procedida uma análise combinada dos dados múltiplos (morfologia+ITS+*matK*). O espaço de análise foi de 16 conjuntos de penalidades, como resultado de quatro variantes para cada parâmetro (4 x 4), sendo empregados para a análise filogenética de cada uma das partições de dados e análises combinadas (3 matrizes de dados). As análises foram realizadas num *cluster* de 15 Athlon XP 2800+ (2 GHz e 512 Mb de RAM cada), conectados em paralelo e gerenciados pelo sistema PVM (Sunderam, 1990). Cada análise foi realizada com o POY (parâmetro *-parallel*) e com duas réplicas (*-buildsperreplicate 2*), armazenando cinco árvores mais parcimoniosas a cada réplica (*-maxtrees 5*). A matriz de custos foi especificada com o parâmetro “*molecularmatrix*” (*-molecularmatrix 'gaptvts.txt'*). A congruência entre as partições de dados foi mensurada através da *Incongruence Length Difference* (ILD; Farris *et al.*, 1995; modificado por Wheeler, 1999), assim como foi escolhida a hipótese filogenética dos dados combinados a qual maximizou a congruência (Wheeler, 1995). O ILD pode ser calculado por meio da diferença entre o comprimento do cladograma resultante dos *dados combinados* e a soma dos comprimentos dos cladogramas gerados a partir das matrizes isoladas (de acordo com a modificação proposta por Wheeler, 1999). A congruência dos caracteres foi empregada assim como um critério de otimização para se escolher o conjunto de parâmetros que minimiza eventos de homoplasia entre os dados. Esse procedimento

analítico, posterior à análise de sensibilidade, é considerado como uma extensão da parcimônia; da mesma forma que a parcimônia procura minimizar as homoplasias e, conseqüentemente, os números de passos em um cladograma, a análise de congruência dos caracteres procura encontrar o conjunto de parâmetros que maximiza a congruência para todas as partições de dados (Wheeler, 1995; Edgecombe *et al.*, 2002). O resultado desta análise permite, dentro deste contexto analítico, escolher a hipótese filogenética mais corroborada pelos dados existentes. A análise filogenética da matriz morfológica foi realizada com o programa PAUP* versão 4b10 (Swofford, 1999), POY (Gladstein & Wheeler, 1996-2001) e NONA (Goloboff, 1999). Para o PAUP* foram realizadas buscas heurísticas (Swofford *et al.*, 1996), via adições aleatórias com 10.000 réplicas, com o algoritmo TBR em efeito (*Tree-Bisection-Reconnection*), fixando-se para 10.000 cladogramas o número máximo de árvores armazenadas (*maxtrees=10.000*). Para o POY foi realizada análise em *cluster* (parâmetro *-parallel*) e com 10 réplicas, armazenando 1.000 árvores mais parcimoniosas a cada réplica (*-maxtrees 1.000*). O suporte dos ramos foi inferido pelos índices de Bremer (*decay indices*; Bremer, 1988), estimados através do programa POY (Gladstein & Wheeler, 1996-2001), TreeRot (Sorenson, 1996), assim como também pelo programa NONA (Goloboff, 1999). O índice de sensibilidade (Miranda *et al.*, em preparação) também foi empregado para o suporte dos ramos, calculado por meio da comparação entre todos os cladogramas do espaço de análise (16 cladogramas, no caso), de acordo com a congruência topológica apresentada (Giribet & Wheeler, 1999). Os cladogramas foram enraizados pelo método de grupo-externo, com o emprego de *Drosophyllum lusitanicum* (Drosophyllaceae). Quando mais de uma AMP (árvore mais parcimoniosa) foi encontrada para determinado parâmetro, foi então apresentado o cladograma de consenso estrito. Os cladogramas foram desenhados com o auxílio dos programas Winclada (Nixon, 1999-2002) e TreeView (Page, 1996).

Análise biogeográfica - A hipótese filogenética minimizadora dos eventos de homoplasia foi submetida ao estudo de biogeografia histórica, realizado pelo método BPA (*Brooks Parsimony Analysis*, Brooks *et al.* [2001]). Com o cladograma que representa a filogenia de Droseraceae foi construída uma matriz de representação que, submetida à análise de parcimônia, resultou em cladograma de áreas (chamado cladograma área/ táxon), seguindo a metodologia proposta por Wiley *et al.* (1991; ver também Wiley, 1988a, b). A análise filogenética foi realizada com o programa PAUP* versão 4b10 por meio de buscas com o algoritmo *branch-and-bound* (Swofford, 1999). Congruências entre o cladograma de áreas

com a história geológica de fragmentação das placas tectônicas constituem evidência para eventos de vicariância; a não-congruência, por outro lado, falsifica a hipótese nula e implica em outros processos históricos tais como dispersão e extinção (Brooks *et al.*, 2001). Desta forma, foram identificados eventos paleogeográficos que determinaram os padrões de diversificação em Droseraceae, assim como puderam ser evidenciados padrões distribucionais para os quais foram necessários assumir eventos de dispersão para o grupo.

RESULTADOS

Análise de sensibilidade – Foram realizadas 16 análises filogenéticas com diferentes parâmetros de custos para cada uma das matrizes de dados (ITS, *matK* e morfologia), além de terem sido realizadas análises das três matrizes combinadas (ITS+*matK* +morfologia).

De todos os parâmetros empregados nas análises, os parâmetros 431 (análise 15; Tabela 4) foram os que resultaram maior incongruência dos dados, resultando em um ILD de 0,1497. Por outro lado, os parâmetros que maximizaram a congruência das hipóteses filogenéticas, ou seja, minimizaram os eventos de homoplasia para cada uma das matrizes (Wheeler, 1995), foram os da análise 8 (*GAPs* = 2, transversões = 4 e transições = 1), tendo o menor valor de ILD (0,1311; Tabela 4). Dessa forma, considerando a análise de sensibilidade como uma extensão da parcimônia com o intuito de identificar o conjunto de parâmetros que minimizem os eventos de homoplasia para uma análise múltipla de dados (Wheeler, 1995; Edgecombe *et al.*, 2002), os parâmetros 241 foram os que resultaram em maior congruência dos dados. Assim, nesse trabalho, as hipóteses filogenéticas obtidas com esses custos foram os escolhidos para o decorrer das discussões (Figuras 2-4).

Análise filogenética dos dados morfológicos – Dos 61 caracteres morfológicos empregados para a análise (Tabelas 2-3), 56 foram parcimoniosamente informativos. A análise resultou 1.034 AMPs (árvores mais parcimoniosas) com comprimento de 348 passos, IC (índice de consistência) de 0,25 e IR (índice de retenção) de 0,69. A Figura 1 traz o cladograma de consenso estrito das 1.034 AMPs. O cladograma apresenta-se de maneira geral com razoável resolução, porém os clados apresentam baixo suporte se considerados os índices de Bremer (a maior parte dos clados apresenta ID [índice de Bremer] entre 1 e 2; Figura 1).

Dionaea e *Drosera regia* apresentam-se num mesmo clado (tendo como sinapomorfias os caracteres 6, 49 e 54) como grupo-irmão do ramo formado por *Aldrovanda* e demais espécies de *Drosera*. Esse clado está suportado por 5 sinapomorfias (caracteres 18, 26, 28, 31 e 41), tendo *Aldrovanda* como grupo mais basal. Nessa topologia, as seções *Bryastrum* (clado formado por *Drosera enodes* a *D. dichrosepala*), *Coelophylla* (*Drosera glanduligera*), *Ptycnostygma* (representada por *Drosera cystiflora* e *D. pauciflora*), *Lasiocephala* (clado formado por *Drosera falconeri* a *D. caduca*), *Erythrorrhizae* (representada por *Drosera macrophylla* e *D. erythrorrhiza*), *Stoloniferae* (*Drosera*

stolonifera) e *Thelocalyx* (clado formado por *D. burmanni* e *D. sessilifolia*) são demonstradas como monofiléticas. Por outro lado, as seções *Drosera* e *Ergaleium* são parafiléticas (Figura 1).

Tabela 3. Caracteres e respectivos estados morfo-anatômicos empregados para a análise filogenética de Droseraceae (? - ausência de informação ou caráter inaplicável; % - estado dimórfico 0 e 1; # - estado dimórfico 0 a 2).

Táxon/ Caracteres	1	2	3	4	5	6
	1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901	1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901	1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901	1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901	1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901	1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901
<i>Aldrovanda vesiculosa</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Dionaea muscipula</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera adelaie</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera affinis</i>	1	0	1	0	0	0
<i>Drosera alba</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera aliciae</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera androsacea</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera anglica</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera arcturi</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera ascendens</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera auriculata</i>	1	0	1	0	0	0
<i>Drosera brevifolia</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera bulbigena</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera burkeana</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera burmanni</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera caduca</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera callistos</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera camporupestriss</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera capensis</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera capillaris</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera cayennensis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera chrysolepis</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera cistiflora</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera collinsiae</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera communis</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera cuneifolia</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera dichrosepala</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera dielsiana</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera enodes</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera ericksoniae</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera erythrorrhiza</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera falconeri</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera felix</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera filiformis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera gigantea</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera glanduligera</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera graminifolia</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera grantsau</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera graomogolensis</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera hamiltonii</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera hartmeyerorum</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera heterophylla</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera hilaris</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera hirtella</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera hyperostigma</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera indica</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera intermedia</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera lanata</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera leucoblata</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera macrantha</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera macrophylla</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera madagascariensis</i>	%	0	0	0	0	0
<i>Drosera mannii</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera microphylla</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera miniata</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera modesta</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera montana</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera natalensis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera nidiformis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera nitidula</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera occidentalis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera ordensis</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera paleacea</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera pauciflora</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera peltata</i>	1	0	0	0	0	0
<i>Drosera petiolaris</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera platystigma</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera pulchella</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Drosera pumila</i>	0	0	0	0	0	0

Tabela 3. Caracteres e respectivos estados morfo-anatômicos empregados para a análise filogenética de Droseraceae (? - ausência de informação ou caráter inaplicável; % - estado dimórfico 0 e 1; # - estado polimórfico 0 a 2). (Continuação.)

	1	2	3	4	5	6
Táxon/ Caracteres	1234567890123456789012345678901234567890123456789012345678901					
<i>Drosera pygmaea</i>	0000102001001301001101210000101100100010001011020010?0?1?1?10					
<i>Drosera ramentacea</i>	100010??101113000101012?0?1??111?110?010010010000200?0?1??00					
<i>Drosera regia</i>	1000021001010?01001000010?00000000010010100212111000011111000					
<i>Drosera roraimae</i>	100010101111110111100101000110110111001001001????????????00					
<i>Drosera rotundifolia</i>	0000101????01101011000200001001000110010010012020220?0?0??00					
<i>Drosera schizandra</i>	0000003????111?????000?0?????????????010?101????????????00					
<i>Drosera schwackei</i>	000000??1101110101100?010?110111011100100100???202????????00					
<i>Drosera scorpioides</i>	1000102????113?????01210?????????????01000001??203?????????10					
<i>Drosera sessilifolia</i>	00000020011111011011013000000001100111110102213020300011111100					
<i>Drosera sewlliae</i>	000010200100130110110121000010111010001000201??200?????????10					
<i>Drosera spathulata</i>	0000002010111100010101210001101100110010010010020200?0?1??00					
<i>Drosera stenopetala</i>	0000102????10?????00203?????????????010?001??0000????????00					
<i>Drosera stolonifera</i>	111010??01000?0000100?012?????????0100010?200100??10?0?????01					
<i>Drosera subhirtella</i>	1110102000100?01111001012010101110100010?200??000010?0?1?01					
<i>Drosera tentaculata</i>	000000??11111100011101010?100111011100100100???002????????00					
<i>Drosera thysanosepala</i>	101010????00?????0?012?????????0??010?200??????10?0?1??01					
<i>Drosera tomentosa</i>	00000010110111010110010100010011?011001011001??20200011111100					
<i>Drosera trinervia</i>	0000001011113011110000?0001001000110010?201??00200?0?1??00					
<i>Drosera uniflora</i>	0000103????10?????01203?????????????010?001??003????????00					
<i>Drosera villosa</i>	000010101101110101100101000100110011001001001??20200?1?1??00					
<i>Drosera viridis</i>	0000102??11011101001000210?010011001100100100???102????????00					
<i>Drosophyllum lusitanicum</i>	1100001000020?00000000111100000000010101102004000411100101000					

Análise filogenética dos dados moleculares – As Figuras 2 e 3 representam as AMPs encontradas para as seqüências ITS e *matK*, respectivamente. A região ITS resultou 5 AMPs com 5.791 passos, IC de 0,18 e IR de 0,93 (consenso estrito na Figura 2), enquanto que o gene *matK* resultou 3 AMPs com 1.688 passos, IC de 0,28 e IR de 0,96 (consenso estrito na Figura 3). Das duas árvores resultantes das análises moleculares, a que apresenta maior resolução (menor número de tricotomias ou politomias) é a da região ITS (4 para ITS e 17 para *matK*; Figuras 2 e 3, respectivamente). A menor resolução da topologia resultante do gene *matK* está relacionado com a maior conservação desse gene, indicada por um maior índice de consistência dada à menor ocorrência de homoplasias (enquanto o cladograma de ITS apresenta IC de 0,18, o de *matK* apresenta 0,28).

A análise combinada das matrizes de dados (ITS+*matK*+morfologia; custo 241) teve como resultado uma única AMP totalmente resolvida com 9.008 passos, IC de 0,18 e IR de 0,93 (Figura 4). O gênero monotípico *Aldrovanda* apresenta-se como linhagem mais basal, seguida do também monotípico *Dionaea* (Figura 4). A monofilia do gênero *Drosera* é evidenciada, suportada por duas sinapomorfias morfológicas (caracteres 12 e 38), ID de 34 e IS (índice de sensibilidade) de 100. O clado formado por todas espécies de *Drosera* (*Drosera regia* a *D. falconeri*) demonstra *Drosera regia* e *D. arcturi* como linhagens mais basais (Figura 4). O clado constituído de *Drosera arcturi* a *D. falconeri* é suportado por duas sinapomorfias morfológicas (caracteres 24 e 50), porém não há suporte relevante de ID nem IS. O clado menos inclusivo a *Drosera arcturi* (clado formado pelas demais espécies do gênero – de *Drosera burmanni* a *D. falconeri*) tem como grupo mais basal a seção *Thelocalyx* (clado *D. burmanni*-*D. sessilifolia*). A referida sessão é monofilética com alto suporte estatístico (ID=92, IS=100), mantida (além dos caracteres moleculares) por seis caracteres morfológicos (17, 22, 23, 37, 38 e 43). Das seções representadas por mais de uma espécie, duas outras são monofiléticas pela hipótese de dados combinados: a seção *Ptycnostigma* (clado *Drosera cistiflora*-*D. pauciflora*) suportada por 11 sinapomorfias morfológicas (5, 7, 13, 16, 18, 25, 35, 36, 42, 44 e 54; ID=98, IS=100) e a seção *Bryastrum* (clado formado pelas “micro-dróseras” – de *Drosera occidentalis* a *D. androsacea*) suportada morfológicamente apenas pela produção de propágulos ou gêmulas (caráter 60; ID=67, IS=100). A seção *Drosera* demonstra ser polifilética, assim como a seção *Lasiocephala*. As seções *Coelophylla* (seção monotípica representada por *Drosera glanduligera*) e *Drosera* (representada pela linhagem de *Drosera hamiltonii*) comprometem a monofilia da seção *Lasiocephala*. As seções *Stoloniferae* (representada por *Drosera stolonifera*) e *Erythrorrizae*

(representada pela linhagem de *Drosera macrophylla*), de maneira análoga, também comprometem a monofilia da seção *Ergaleium* (Figura 4).

Análise biogeográfica – A Tabela 5 demonstra a matriz de áreas (representadas de maneira geograficamente ampla) codificada a partir da análise combinada (Figura 4). Foram codificados os 91 táxons de Droseraceae e Drosophyllaceae (caracteres 1 ao 91) assim como os ancestrais hipotéticos, representados pelos nós do cladograma (caracteres 92 ao 181; Brooks *et al.*, 2001). A análise filogenética da matriz de áreas resultou 4 cladogramas igualmente parcimoniosos (213 passos, IC = 0,60, IR = 0,71; Figura 5). Os cladogramas apresentam razoável congruência entre si, discordando basicamente na posição dos clados África-Madagascar e N. Austrália. Os clados restantes, por outro lado, se mantêm estáveis em todas as topologias. Foram também realizadas análises com a exclusão de *Drosophyllum* (caráter 91; Tabela 5). Porém o experimento não trouxe modificações nos resultados, uma vez que as mesmas quatro topologias foram recuperadas pela análise filogenética.

Tabela 4. Comprimento dos cladogramas resultantes de análises de matrizes individuais (ITS, *matK* e morfologia), da análise das matrizes combinadas (ITS + *matK* + morfologia) assim como o valor do ILD para cada parâmetro de custo. N indica o número da análise (espaço de análise = 16), tendo como parâmetro de custo inicial 111 (*GAPs* = 1, transversões = 1, transições = 1) até 441 (*GAPs* = 4, transversões = 4, transições = 1).

N	CUSTO	ITS	<i>matK</i>	MORFO	TOTAL	ILD
1	111	2527	659	348	4121	0,1424
2	121	3416	1002	348	5524	0,1372
3	131	3924	1188	348	6347	0,1398
4	141	3929	1200	348	6366	0,1396
5	211	3033	686	348	4723	0,1389
6	221	4000	1026	348	6219	0,1359
7	231	4941	1364	348	7679	0,1336
8	241	5791	1688	348	9008	0,1311
9	311	3517	712	348	5310	0,1380
10	321	4513	1048	348	6890	0,1424
11	331	5449	1393	348	8329	0,1368
12	341	6405	1710	348	9815	0,1377
13	411	4007	737	348	5925	0,1406
14	421	4988	1075	348	7457	0,1403
15	431	5954	1456	348	9124	0,1497
16	441	6898	1984	348	10827	0,1475

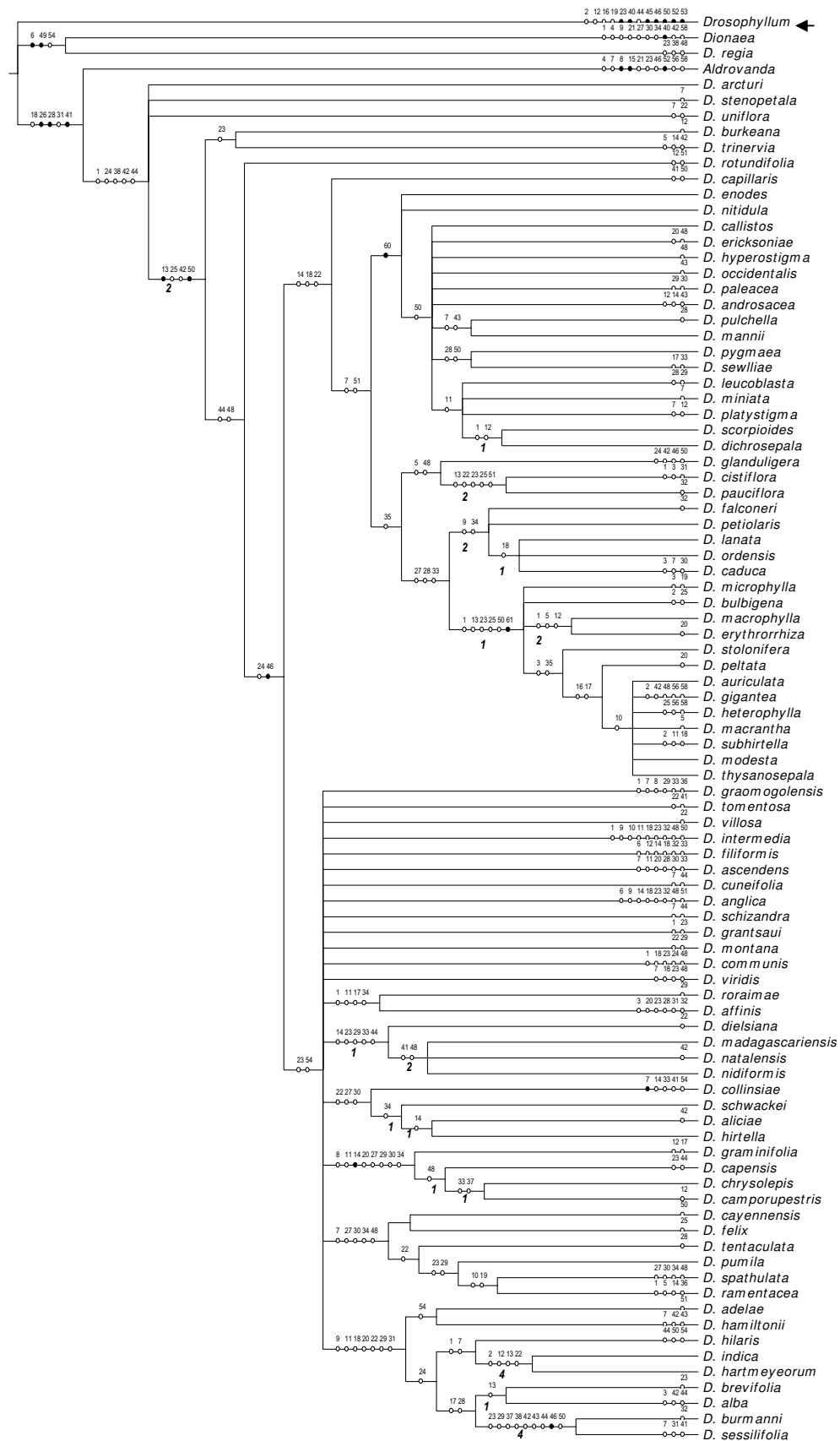


Figura 1. Consenso estricto de 1.034 AMPs encontradas para a matriz morfológica de Droseraceae (348 passos; IC=0,25; IR=0,69). Os valores abaixo dos ramos indicam o índice de Bremer (Bremer, 1988). Nos ramos estão indicadas as transformações (os números referem-se aos caracteres; ver Tabelas 2-3) (AMP – árvore mais parcimoniosa; *D.* – *Drosera*; IC – índice de consistência; IR – índice de retenção; a seta indica o grupo-externo).

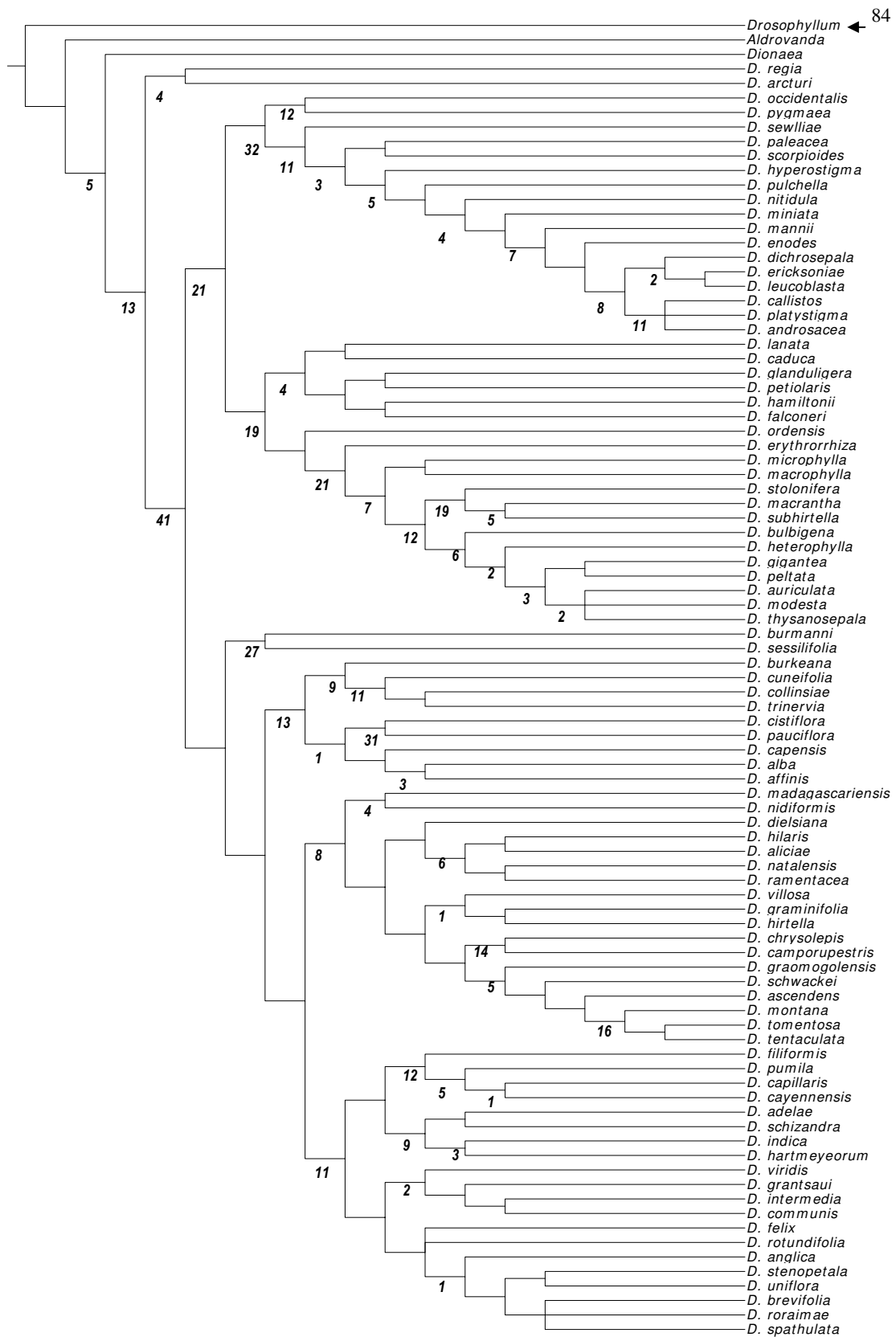


Figura 2. Consenso estrito de 5 AMPs encontradas para a seqüência ITS de Droseraceae (5.791 passos; IC=0,18; IR=0,93) com pesagem 241 (gaps:transversões:transições). Os valores abaixo dos ramos indicam o índice de Bremer (Bremer, 1988) (AMP – árvore mais parcimoniosa; D. – *Drosera*; IC – índice de consistência; IR – índice de retenção; a seta indica o grupo-externo).

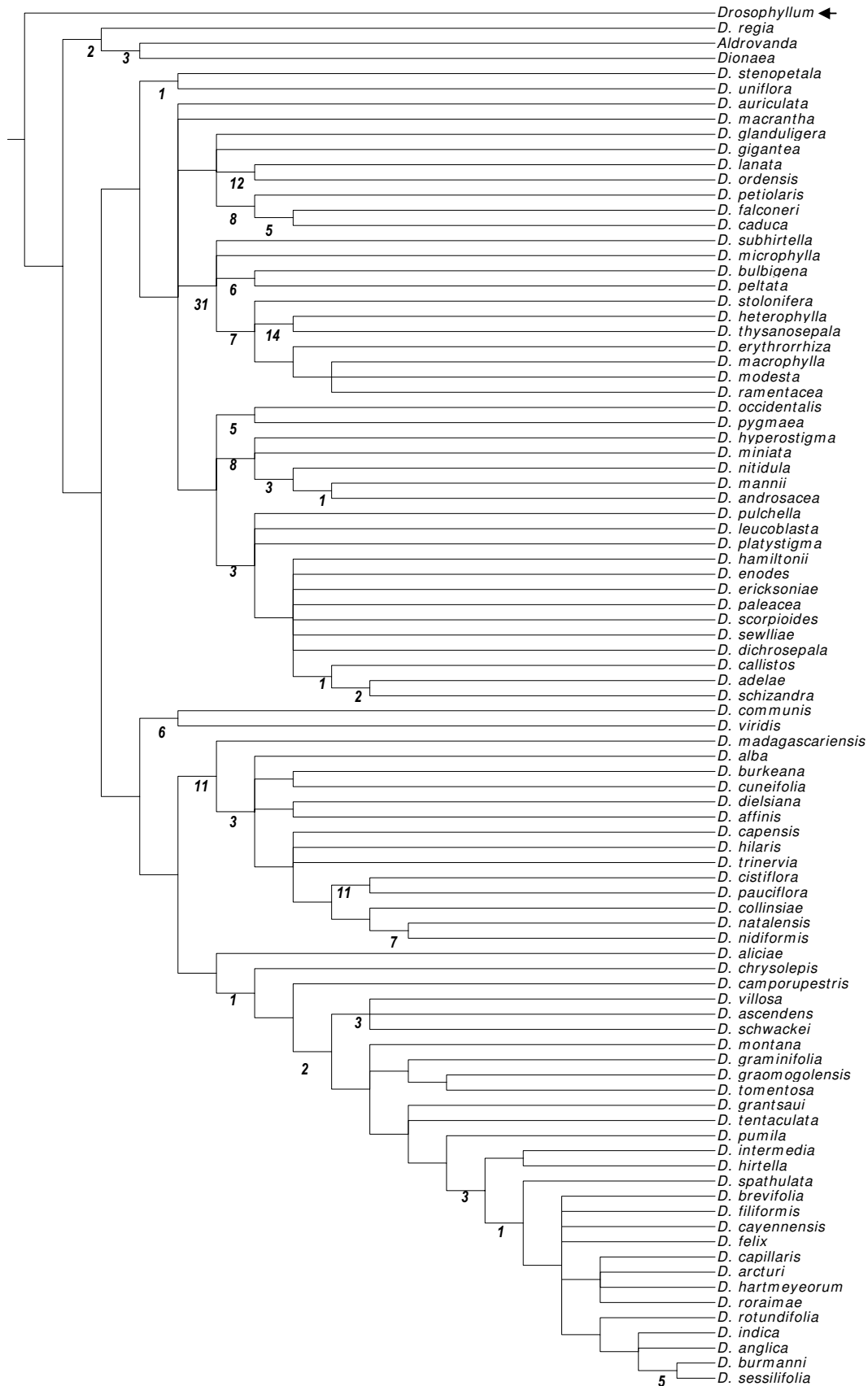


Figura 3. Consenso estrito de 3 AMPs encontradas para a sequência *matK* de Droseraceae (1.688 passos; IC=0,28; IR=0,96) com pesagem 241 (*gaps*:transversões:transições). Os valores abaixo dos ramos indicam o índice de Bremer (Bremer, 1988) (AMP – árvore mais parcimoniosa; *D.* – *Drosera*; IC – índice de consistência; IR – índice de retenção; a seta indica o grupo-externo).

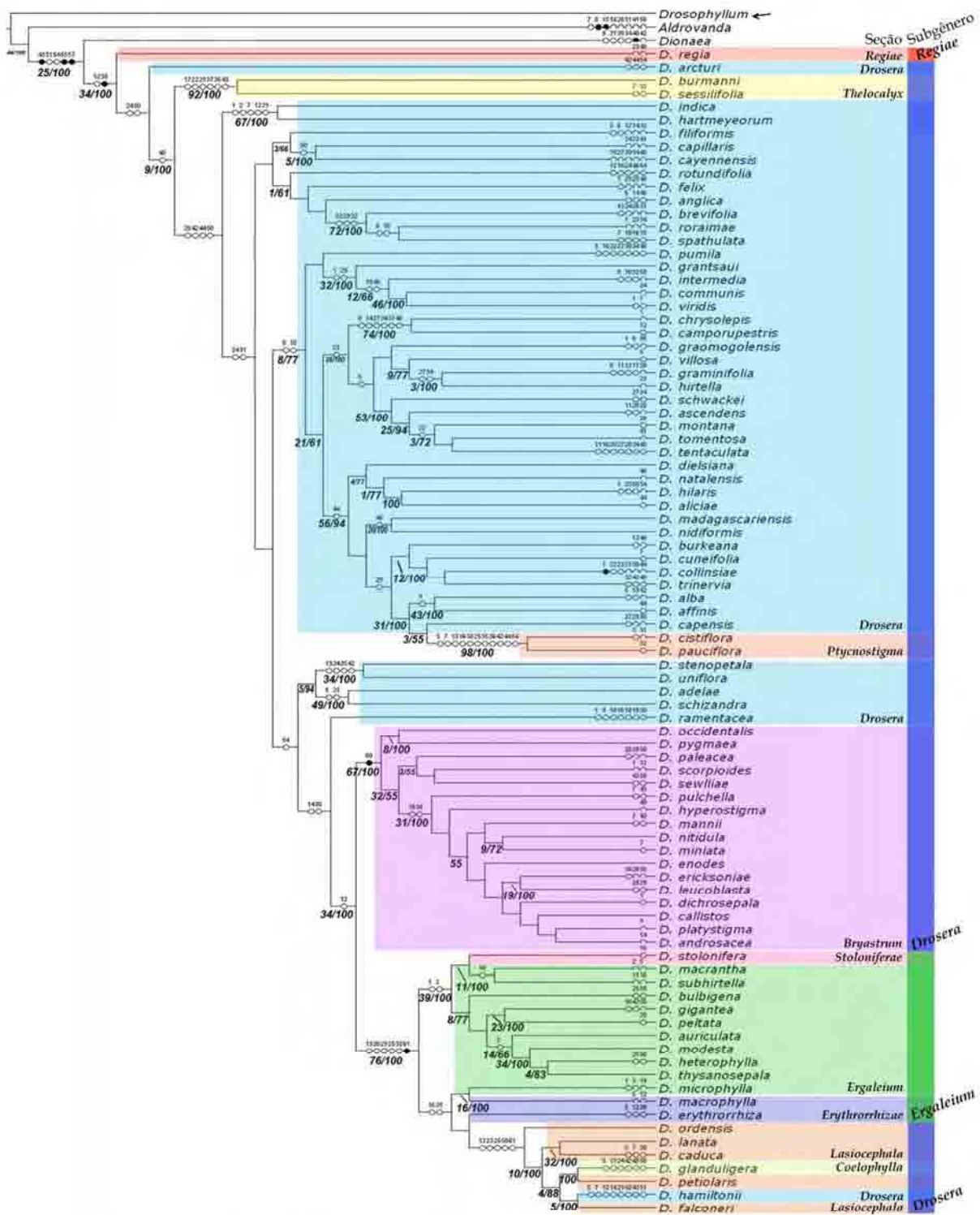


Figura 4. Árvore mais parcimoniosa única encontrada para a análise combinada (ITS+*matK*+morfologia) de Droseraceae (9.008 passos; IC=0,18; IR=0,93) com pesagem 241 (*gaps*:transversões:transições). Os valores abaixo dos ramos indicam os índices de Bremer (Bremer, 1988) e os acima os índices de sensibilidade, estes representando a proporção de ocorrência de cada clado nos 16 cladogramas do espaço de análise. Nos ramos estão indicadas as transformações (os números referem-se aos caracteres; ver Tabelas 2-3) (*D.* – *Drosera*; IC – índice de consistência; IR – índice de retenção; a seta indica o grupo-externo).

Tabela 5. Matriz de áreas geográficas para a análise BPA (*Brooks Analysis Parsimony*). Os 181 caracteres representam os táxons (caráter 1 ao 91) e os nós (caráter 92 ao 181) do cladograma da análise combinada (Figura 4). (Am. Central = América Central; Am. Norte = América do Norte; Am. Sul = América do Sul; N = Norte; S = Sul; SO = Sudoeste; GE = grupo-externo.)

Áreas	5	15	25	35	45	55	65
África	0000000000	0000000000	0000000000	0000000100	0011111111	1111111000	0000000000
Am. Central	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000001
Am. Norte	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000
Am. Sul	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	1000000000	0000000111	1111111111
Ásia	0000000000	0000100000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000
N Austrália	0000000000	0000000000	0000000000	0000000011	0000000000	0000000000	0000000000
S/SO Austrália	0001000111	1111111111	1111111111	1111111000	0000000000	0000000000	0000000000
Europa	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000
Indonésia	0000000000	0000100000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000
Madagascar	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	1010000000	0000000000
Nova Zelândia	0000000000	0000000000	0000000000	0000010000	0100000000	0000000000	0000000000
Tasmânia	0001000000	0000100010	0000000000	0000010000	0000000000	0000000000	0000000000
GE	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000

Áreas	75	85	95	105	115	125	135
África	0000000000	0001000101	1000000000	0000000000	0000000000	0000000101	1111111111
Am. Central	0000010000	1000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000
Am. Norte	1000011010	1100000010	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000
Am. Sul	1110110101	1000100000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000010	1000000000
Ásia	0001000010	0001010001	0000000000	0010100111	0000000000	0000001100	1000000000
N Austrália	0000000000	0001010001	0111111011	0000000001	0000000000	0000001101	1000000000
S/SO Austrália	0001000000	0001001000	0011011111	1111111111	1111111111	1111111100	1000000000
Europa	1000001010	0000000001	1000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000
Indonésia	0001000000	0000010000	0000000000	0010100111	0000000000	0000001100	1000000000
Madagascar	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000111
Nova Zelândia	0001000000	0000001000	0000000000	0000000000	0000000000	0000111110	1000000000
Tasmânia	0001000000	0000000000	0010011011	0010111111	0000000000	0000111100	1000000000
GE	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000

Áreas	145	155	165	175
África	1111100000	0000010000	1000000001	1110111110 1
Am. Central	0000000000	0000000111	1011111111	1010111110 1
Am. Norte	0000000000	0000000111	1001111111	1010111110 1
Am. Sul	0000011111	1111111111	1111111111	1011111111 1
Ásia	0000000000	0000000000	0111110011	1111111110 1
N Austrália	0000000000	0000000000	0000000001	1010111111 1
S/SO Austrália	0000000000	0000000000	0111110011	1010111110 1
Europa	0000000000	0000000111	1001110011	1010111110 1
Indonésia	0000000000	0000000000	0111110011	1011111110 1
Madagascar	1000100000	0000010000	1000000001	1010111110 1
Nova Zelândia	0000000000	0000000000	0111110011	1010111111 1
Tasmânia	0000000000	0000000000	0111110011	1010111110 1
GE	0000000000	0000000000	0000000000	0000000000 0

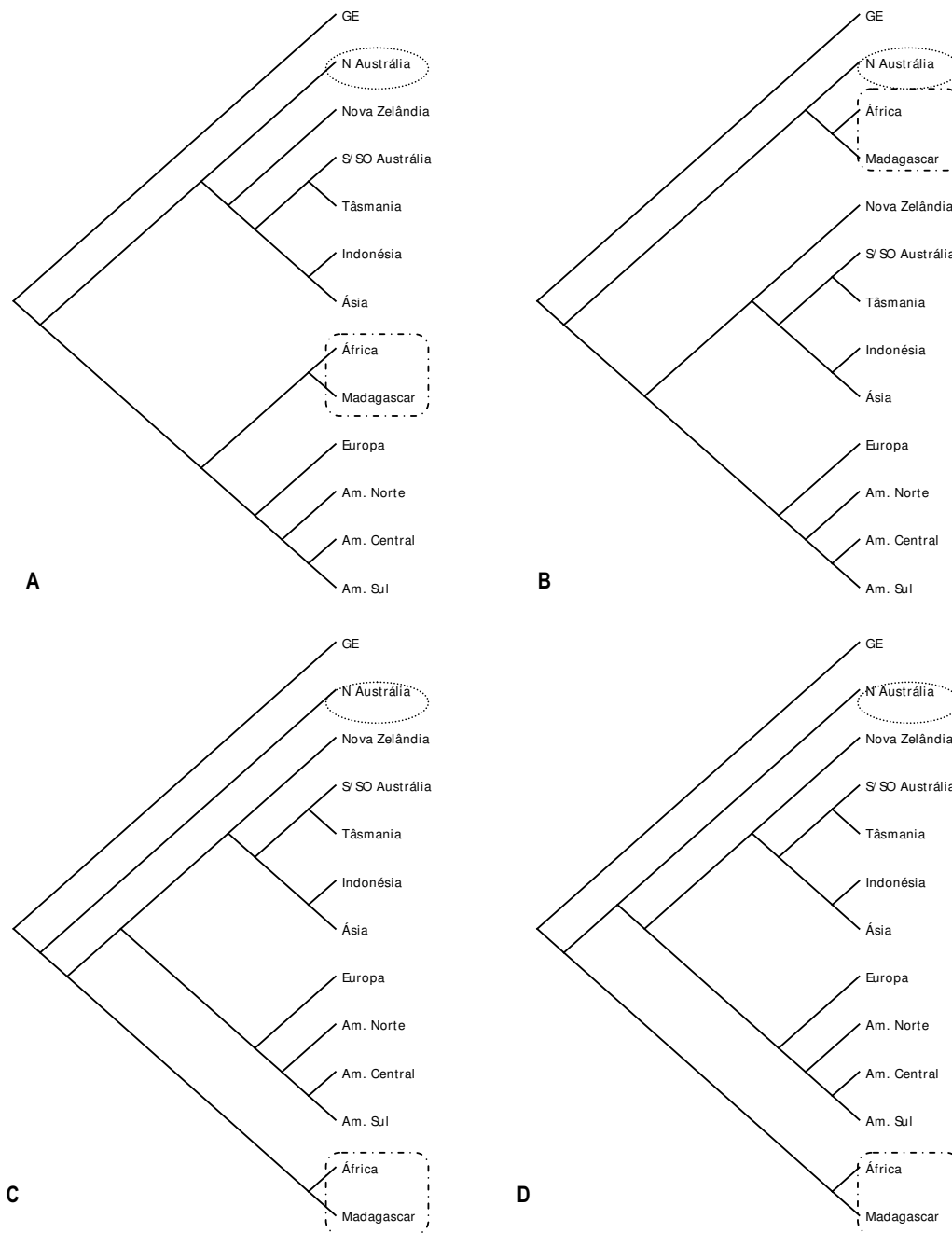


Figura 5. Árvores mais parcimoniosas (A-D; 213 passos; IC=0,60; IR=0,71) encontradas para a análise BPA (*Brooks Analysis Parsimony*) baseada na matriz de áreas (ver Tabela 5) de Droseraceae. A codificação dos caracteres foi baseada na hipótese filogenética combinada (ITS+*matK*+morfologia; Figura 4). As árvores foram enraizadas pelo grupo-externo hipotético (Am. Central = América Central; Am. Norte = América do Norte; Am. Sul = América do Sul; N = Norte; S = Sul; SO = Sudoeste; GE = grupo-externo).

DISCUSSÃO

Taxonomia de Droseraceae e relação filogenética dos gêneros – A monofilia de Droseraceae, atualmente, é amplamente aceita, corroborada por estudos filogenéticos amplos os quais envolveram desde dados morfológicos a dados moleculares (e.g. Albert *et al.*, 1992; Williams *et al.*, 1994; APG, 1998; 2003; Cuénoud *et al.*, 2002). Consenso também existe quanto ao fato de *Drosera* ser gênero derivado, quando comparado aos demais gêneros de Droseraceae (e.g. Meimberg *et al.*, 2000; Rivadavia *et al.*, 2003). Entretanto, apesar de *Aldrovanda* (Figura 8) e *Dionaea* (Figura 9) serem grupos basais da família, a posição filogenética de ambos ainda gera polêmicas. Os referidos gêneros são monotípicos, os quais apresentam folhas intrincadamente modificadas na forma de ratoeira (*snap traps*) adaptadas para a captura de pequenas presas (Cameron *et al.*, 2002; Miranda *et al.*, 2005a), sejam elas terrestres (*Dionaea*) ou aquáticas (*Aldrovanda*). Cameron *et al.* (2002) demonstraram, por meio da metodologia filogenética, a homologia das armadilhas, tese corroborada por Miranda *et al.* (em preparação) através do estudo filogenético com quatro diferentes genes. É provável que as armadilhas do tipo ratoeira tenham se originado de armadilhas do tipo adesivas (talvez como as que ocorrem nas *Drosera* atuais), tendo sido a adaptação ao ambiente aquático um evento secundário para *Aldrovanda* (Cameron *et al.*, 2002; Miranda *et al.*, em preparação). Das análises das matrizes isoladas, apenas a do gene *matK* (Figura 3) sustenta *Aldrovanda* e *Dionaea* no mesmo clado, tendo *Drosera regia* como grupo-irmão. Entretanto, considerando a hipótese baseada nos dados morfológicos (Figura 1), a premissa do clado *Dionaea-Aldrovanda* em uma topologia alternativa requer apenas três passos adicionais. Dessa forma, a hipótese de monofilia de *Dionaea-Aldrovanda*, como demonstrada por estudos prévios (Cameron *et al.*, 2002; Miranda *et al.*, em preparação) é plausível.

Miranda *et al.* (em preparação) demonstram a parafilia de *Drosera*, quando consideradas as espécies *Drosera regia* (Figura 10) e *D. arcturi* (Figura 15), recomendando o reconhecimento do gênero *Freatulina* como proposto por Chrtek & Slavíková (1996), baseados em análise dos caracteres morfológicos. A análise combinada não evidencia a parafilia de *Drosera*; porém, essa hipótese é suportada pela análise dos dados morfológicos (Figura 1) e do gene *matK* (Figura 3).

Classificação infragenérica de *Drosera* – A primeira classificação infragenérica de *Drosera* foi proposta por De Candolle (1824), baseada meramente na morfologia dos estiletos. Posteriormente, novas classificações infragenéricas foram apresentadas (Planchon, 1848; Diels, 1906; Marchant *et al.*, 1982; Seine & Barthlott, 1994) à medida que o conhecimento dos caracteres vegetativos e reprodutivos (assim como a sucessiva descrição de novas espécies) foi se acumulando. A proposta taxonômica de Seine & Barthlott (1994) é apresentada de maneira sumarizada na Tabela 6. De todas as seções propostas ou reconhecidas pelos referidos autores, apenas as seções *Meristocaulis* e *Phycopsis* não foram incluídas no presente estudo.

De acordo com a análise combinada (ITS+*matK*+morfologia), o clado que compreende as *Drosera* spp. tem como linhagens mais basais *Drosera regia* e *D. arcturi* (Figura 4). Com exceção da análise do gene *matK* (Figura 3), que demonstra uma posição derivada para *Drosera arcturi*, todas as demais hipóteses indicam posição basal para a espécie. *Drosera arcturi* (Figura 15) recebeu seu epíteto específico em referência ao local onde foi descoberta, o Monte Arthur situado na Tasmânia (Cole, 1996). Possui características similares (pedúnculo floral unifloro, estípulas nulas ou inconspícuas) às encontradas em outras duas espécies, *Drosera uniflora* (espécie restrita ao extremo austro da América do Sul) e *Drosera stenopetala* (endêmica da Nova Zelândia), razões pelas quais Diels (1906) motivou-se a segregá-las na seção *Psychophila*. Anteriormente, Planchon (1848) havia descrito a seção *Psychophila* para apenas *Drosera uniflora*, segregando *Drosera arcturi* em seção própria, sec. *Arcturia*. Marchant *et al.* (1982), por sua vez, reuniram novamente as duas espécies em *Psychophila*. Rivadavia *et al.* (2003), com a análise filogenética do gene *rbcl*, demonstram *D. stenopetala* (Figura 14) e *D. uniflora* como grupos-irmãos, como evidenciado pelas hipóteses obtidas pelo gene *matK*, região ITS e análise combinada (Figuras 2-4). A análise filogenética combinada (como as resultantes das análises de matrizes isoladas), por outro lado, não sustenta a seção *Psychophila* (entendida por *D. arcturi*+*D. stenopetala*+*D. uniflora*), apresentando-se polifilética (Figura 4). Seine & Barthlott (1994), em sua proposta de classificação infragenérica, não reconhecem a seção *Psychophila*, incluindo *D. arcturi*, *D. stenopetala* e *D. uniflora* à seção *Drosera*. A análise combinada demonstra *D. stenopetala* e *D. uniflora* como grupos-irmãos, clado suportado por 4 sinapomorfias morfológicas ([caráter 13] estípulas ausentes, [caráter 24] ciclo de vida anual, [caráter 25] pedúnculo floral unifloro e [caráter 42] estiletos indivisos; Figura 4). Dessa forma, fica evidente que a seção *Psychophila* é artificial, circunscrita por caracteres homoplásticos. A inclusão da seção

Psycophila na seção *Drosera* (Seine & Barthlott, 1994) ainda não resolve o impasse, uma vez que essa última é polifilética.

Possivelmente a seção mais controversa tenha sido a seção *Drosera*, a qual reuniu espécies extremamente amplas considerando a morfologia, táxon este difícil de ser circunscrito de maneira precisa. A circunscrição da seção é excessivamente ampla, reunindo espécies basicamente cujos estiles são em número de três e bipartidos desde a base (*sensu* Planchon, 1848; Tabela 6). A maior parte das espécies da referida seção encontram-se no clado de *Drosera pumila* a *D. pauciflora*, apesar de outras cinco linhagens conterem representantes da seção (*Drosera arcturi*, *D. indica*-*D. hartmeyerorum*, *D. filiformis* a *D. spathulata*, *D. stenopetala* a *D. ramentacea*, *D. hamiltonii*; Figura 4). Depois de *D. arcturi*, o grupo mais basal é o formado por *Drosera indica* e pela recentemente descrita *D. hartmeyerorum* (Schlauer, 2001). *Drosera indica* apresenta polimorfismos morfológicos evidentes, talvez como reflexo de sua ampla distribuição nos continentes asiático, africano e australiano (Susandarini *et al.*, 2002). Miranda *et al.* (2005a) apontam a presença de emergências não-glandulares moriformes na base foliar e nas brácteas dos pedúnculos florais de *Drosera indica*, caracteres os quais já haviam sido empregados por Schlauer (2001) para descrever o morfotipo como espécie nova, *Drosera hartmeyerorum* (Hartmeyer & Hartmeyer, 2001). Planchon (1848) propõe a seção *Arachnopus*, mantida por Diels (1906) e Marchant *et al.* (1982), agrupando *Drosera adela*, *D. indica*, *D. prolifera* e *D. schizandra*. A análise da região ITS evidencia o clado *Drosera adela*-*D. schizandra*-*D. indica*-*D. hartmeyerorum* (Figura 2). A análise combinada, entretanto, não sustenta a seção *Arachnopus*, demonstrando *Drosera adela* e *D. schizandra* (apesar destes formarem um grupo monofilético) distante filogeneticamente do clado *D. indica*-*D. hartmeyerorum* (Figura 4). Seine & Barthlott (1994) não reconhecem a seção *Arachnopus*, combinando a mesma com a seção *Drosera*, dado às características polínicas comuns.

Tabela 6. Classificação infragenérica do gênero *Drosera* (Droseraceae) proposta por Seine & Barthlott (1994).

Táxon	Características
Subgênero <i>Drosera</i> Marchant, Aston & George	Érvas sem tubérculos; pólen em tétrades, desprovido de opérculo
Subgen. <i>Drosera</i> seção <i>Drosera</i>	Caules breves ou longos; estípulas presentes; 3 estiletos, bipartidos desde a base; pólen com um poro central proximal
Subgen. <i>Drosera</i> seção <i>Bryastrum</i> Planch.	Caules breves; estípulas presentes; 3 a 5 estiletos, mais ou menos divididos; pólen com um poro central proximal; propagação vegetativa por gêmulas
Subgen. <i>Drosera</i> seção <i>Coelophylla</i> Planch.	Caules breves; estípulas presentes; 3 estiletos bi ou trifurcados; pólen com 15-20 poros
Subgen. <i>Drosera</i> seção <i>Lasiocephala</i> Planch.	Caules breves ou longos; 3 estiletos bipartidos desde a base, bifurcados nos ápices; pólen com um poro central proximal
Subgen. <i>Drosera</i> seção <i>Meristocaulis</i> Maguire & Wurdack	Caules longos; estípulas presentes; 3 estiletos inteiros brevemente divididos nos ápices
Subgen. <i>Drosera</i> seção <i>Phycopsis</i> Planch.	Caules breves; estípulas presentes; 3 estiletos bifurcados; pólen com um poro central proximal
Subgen. <i>Drosera</i> seção <i>Ptycnostigma</i> Planch.	Caules breves ou longos; raízes espessas; estípulas ausentes; 3 estiletos bipartidos desde a base; pólen com um poro central proximal
Subgen. <i>Drosera</i> seção <i>Thelocalyx</i> Planch.	Caules breves; estípulas presentes; 5 estiletos brevemente ramificados nos ápices; pólen com 20-30 poros
Subgênero <i>Ergaleium</i> (DC.) Drude	Érvas com tubérculos; estípulas ausentes; estiletos multipartidos desde a base; pólen em tétrades, desprovido de opérculo, com um poro central proximal
Subgen. <i>Ergaleium</i> seção <i>Ergaleium</i>	Caules longos; folhas peltadas (raramente roseta basal com folhas espatuladas presentes)
Subgen. <i>Ergaleium</i> seção <i>Erythrorrizae</i> (Planch.) Diels	Caules breves; folhas não-peltadas
Subgen. <i>Ergaleium</i> seção <i>Stoloniferae</i> (Planch.) DeBuhr	Caules longos; folhas geralmente não-peltadas
Subgênero <i>Regiae</i> Seine & Barthlott	Planta sufruticosa; caules lenhosos; estípulas ausentes; 3 estiletos inteiros; pólen em tétrades, desprovido de opérculo, com 10-15 poros

A análise combinada demonstra as africanas *Drosera cistiflora* (Figura 18) e *D. pauciflora* como grupos-irmãos, clado suportado por 11 sinapomorfias morfológicas (Figura 4). Essas espécies são confinadas à Região do Cabo, a primeira sendo caulescente (pode atingir 40 cm de comprimento) e a segunda rosetada (Obermeyer, 1970). Apresentam flores exuberantes que podem atingir 6 cm de diâmetro, característica incomum para o gênero. As espécies foram segregadas na seção *Ptycnostigma* (Planchon, 1848; Diels, 1906), táxon reconhecido por Seine & Barthlott (1994). Os autores justificam a manutenção de *Ptycnostigma* pela morfologia radicular peculiar das espécies (raízes espessas), além de apresentarem folhas exestipuladas (caráter 13). As hipóteses filogenéticas da matriz morfológica (Figura 1), da região ITS (Figura 2) e do gene *matK* (Figura 3) também corroboram a monofilia do grupo. A análise do gene *rbcL* realizada por Rivadavia *et al.* (2003), por outro lado, acusa a parafilia da seção.

Drosera hamiltonii, espécie endêmica do sudoeste australiano, foi colocada em seção própria por Diels (1906) e Marchant *et al.* (1982), denominada *Stelogyne*, argumentada pela presença de estiles unidos praticamente até o ápice. Apesar de Diels (1906) descrever *D. hamiltonii* como portadora de três estiles, estes são em número de cinco (Lowrie, 1989). A análise combinada demonstra *D. hamiltonii* em clado composto, na maior parte, por espécies da seção *Lasiocephala* (clado de *D. ordensis* a *D. falconeri*; Figura 4).

Saint-Hilaire, em 1824, descreveu quatro espécies, dentre elas: *Drosera montana*, *D. tomentosa* (Figura 11) e *D. hirtella*, táxons reconhecidos por Eichler (1872). Em 1906, Diels subordinou as duas últimas ao *status* de variedade de *D. montana*, assim como também fez o mesmo para *D. roraimae* (descrita por Klotzsch em 1848) e descreveu uma nova variedade, encontrada em Minas Gerais, *Drosera montana* var. *schwackei*. Maguire & Laundon, entretanto, voltaram a restabelecer o *status* de espécie para *D. roraimae* (Maguire *et al.*, 1957), posicionamento reconhecido por Silva & Giuliatti (1997). Silva & Giuliatti (*l.c.*), em sua revisão do gênero para o Brasil, mantiveram os táxons *D. montana* var. *hirtella*, *D. montana* var. *tomentosa* e *D. montana* var. *schwackei*, como proposto por Diels (1906). Rivadavia *et al.* (2003), uma vez que *D. montana*, *D. hirtella* e *D. tomentosa* não formam grupo monofilético segundo sua análise, sugerem que as mesmas sejam reconhecidas como espécies (o estudo não incluiu *D. roraimae*). Miranda *et al.* (2005b) também sugerem o reconhecimento de *D. hirtella*, suportado por características morfológicas (Miranda *et al.*, 2005a), porém foi demonstrada a monofilia para o grupo *D. montana*-*D. tomentosa*, não havendo assim subsídios para a manutenção de *D. tomentosa*. A análise combinada evidencia *Drosera roraimae* como pertencente a uma linhagem basal quando comparada às demais

espécies do complexo *montana* (*D. hirtella*, *D. montana*, *D. tomentosa* e *D. schwackei*; Figura 4). *Drosera hirtella* se apresenta como grupo-irmão de *Drosera graminifolia*, suportada por duas sinapomorfias morfológicas ([caráter 27] tricomas tectores na base do pedúnculo floral presentes e [caráter 34] tricomas tectores nas sépalas presentes; Figura 4). *Drosera montana* e *D. tomentosa* pertencem à mesma linhagem de *Drosera tentaculata*, espécie recém-descrita com distribuição em Minas Gerais e Bahia (Rivadavia, 2003), sendo a única sinapomorfia morfológica o padrão morfológico das emergências glandulares marginais (caráter 22). *Drosera schwackei*, por sua vez, encontra-se como linhagem basal em clado mais inclusivo (*D. schwackei* a *D. tentaculata*; Figura 4).

O presente estudo demonstra a polifilia do complexo *montana*, tanto para as hipóteses resultantes das matrizes isoladas como combinadas (Figuras 1-4). Uma vez que *D. hirtella*, *D. montana*, *D. tomentosa* e *D. schwackei* não formam grupo monofilético (ferindo a premissa de ser clado exclusivo, de acordo com o conceito de *espécie genealógica sensu* Baum & Shaw [1995]), sugere-se o restabelecimento para espécie das mesmas. Santos (1989) defende o reconhecimento de *D. tomentosa* e *D. hirtella*, alegando que são facilmente reconhecidas morfológicamente. O complexo *montana* tem sido motivo de muito embate taxonômico, como historicamente demonstrado. A razão pela qual se dão as divergências pode ser o fato de a especiação dos táxons sul-americanos, principalmente os brasileiros, ser provavelmente recente (indicada pelos ramos extremamente curtos do cladograma apresentado por Rivadavia *et al.* [2003]). Isso pode ser evidenciado pelas características diagnósticas muitas vezes tênues empregadas para a delimitação das espécies, por vezes baseadas no padrão indumentário das folhas, sépalas e pedúnculos florais.

Planchon (1848) descreveu a seção *Thelocalyx* para agrupar *Drosera burmanni* (Figura 12) e *D. sessilifolia*, as quais apresentam, singularmente em *Drosera*, gineceu pentâmero com estiletos indivisos. Miranda *et al.* (2005a; b) apontam também características sinapomórficas para a seção, dentre elas a circinação foliar do tipo inteira (caracterizada pelo dobramento dos primórdios foliares apenas no sentido longitudinal das margens), brácteas do pedúnculo floral fimbriadas, assim como características seminais (Boesewinkel, 1989; Miranda *et al.*, 2005a). Propostas posteriores também mantiveram a seção, calcadas principalmente nos caracteres florais (Diels, 1906; Marchant *et al.*, 1982; Seine & Barhtlott, 1994). Todas as hipóteses demonstram com alta confiança o clado *D. burmanni-D. sessilifolia*, tanto os resultantes de análises de matrizes isoladas como combinadas (Figuras 1-4), apesar de haver incoerência entre a posição basal ou mais derivada do clado. A análise combinada (Figura 4) indica 6 sinapomorfias morfológicas para o clado,

dentre elas a presença de cinco carpelos e cinco estiletos (caracteres 38 e 43), o padrão de prefoliação (caráter 23) e a presença de fímbrias na base das brácteas do pedúnculo floral (caráter 37). Rivadavia *et al.* (2003) e Miranda *et al.* (2005b) também demonstram a monofilia da seção *Thelocalyx*.

A seção *Bryastrum* forma grupo monofilético com alta confiança estatística (Figura 4), corroborada pelas análises isoladas da matriz morfológica e ITS (Figuras 1-2). O grupo é representado pelas “micro-dróseras” (*pygmy sundews*; Figura 17), endêmico da Austrália e Tasmânia (*D. pygmaea* também ocorre na Nova Zelândia). Apresenta como sinapomorfia a capacidade de produzir propágulos (ou gêmulas) no outono, responsável pela reprodução vegetativa (caráter 60). As gêmulas são folhas modificadas na forma de pequenos glóbulos dorso-ventralmente achatados (Bobák *et al.*, 1998), as quais possuem embrião envolto por tecido nutritivo. À medida que se desenvolvem a partir do meristema apical da roseta, as gêmulas vão exercendo pressão cada vez maior sobre as estípulas, geralmente paleáceas para *Bryastrum*. Quando ocorre o estímulo mecânico, como uma gota de chuva, as gêmulas são lançadas pelas estípulas (que agem como catapultas) a distâncias que podem atingir 2 metros (Lowrie, 1989). Karlsson & Pate (1992) demonstraram a produção mais efetiva de gêmulas do que sementes (13 sementes no máximo para 79 gêmulas por planta por estação), o que deve refletir adaptação às condições extremas do ambiente (temperatura e umidade). A produção de gêmulas deve ser estimulada pela diminuição da temperatura das noites de outono (Lowrie, 1989) e, segundo Bobák *et al.* (1998), a produção dos propágulos em detrimento de sementes deve ser mais vantajosa uma vez que os primeiros possuem alta taxa de brotamento (80 a 100%) e produzem plantas adultas mais rapidamente do que as segundas (enquanto que as plantas oriundas de sementes precisam de 120-150 dias para atingirem a maturidade, as provindas de gêmulas levam de 7 a 14 dias; Lowrie, 1989; Bobák *et al.*, 1998; Miranda, dados não publicados). Outra adaptação do grupo é a capacidade de entrar em dormência no verão. Nos meses mais quentes (dezembro a fevereiro), a formação de folhas é interrompida e no centro da roseta as estípulas formam uma imbricada estrutura que protege o meristema apical. As estípulas podem apresentar coloração prateada, importante para a reflexão da luz e calor provenientes do sol (Lowrie, 1989). Em alguns casos, a gema de dormência é ancorada e suspensa pelas folhas persistentes mortas previamente produzidas, assegurando a sobrevivência da planta, que é afastada do solo extremamente quente (Lowrie, 1989).

Todas as espécies da seção *Bryastrum* estão confinadas ao sudoeste australiano, com exceção de *Drosera pygmaea*, que ocorre de maneira disjunta no sudoeste e

também no sudeste do continente, Tasmânia e Nova Zelândia. Diferentemente, enquanto que todas as demais micro-dróseras são pentâmeras, *Drosera pygmaea* apresenta flores tetrâmeras. Por esse motivo, propostas taxonômicas prévias isolaram a espécie das demais micro-dróseras (seção *Bryastrum* – *sensu* Planchon [1848], Diels [1906] – ou seção *Rorella* – *sensu* Marchant *et al.* [1982] – para *D. pygmaea*, e seção *Lamprolepis* para as demais espécies pentâmeras). A análise aqui apresentada não corrobora *D. pygmaea* em seção própria, sustentando a espécie dentro de *Bryastrum*, como sugerido por Seine & Barthlott (1994) e anteriormente apontado por Cheek (1990). O perianto tetrâmero de *D. pygmaea*, único para o gênero, deve constituir autoapomorfia, resultante da perda de uma das peças florais, derivado do estado pentâmero. O número de estiletos para os representantes da seção *Bryastrum* é variável, de três para a maior parte das espécies, quatro para *D. pygmaea*, até cinco para *D. occidentalis*, *D. sewlliae*, *D. pulchella*, *D. manni*, *D. platystigma* e *D. androsacea* (Figura 4). *Drosera platystigma* apresenta polimorfismo, podendo ser encontrados indivíduos com três, quatro ou mesmo cinco estiletos (Lowrie, 1998). É provável que a condição plesiomórfica para esse caráter seja o número de três estiletos, sendo os estados 4 ou 5 apomórficos. A transformação homoplástica da condição 3 para a 5, como evidenciada pelo menos três vezes, representa eventos de paralelismo (Figura 4).

O subgênero *Ergaleium* compreende três seções (*Ergaleium*, *Stoloniferae* e *Erythrorrhizae sensu* Seine & Barthlott [1994]) as quais agrupam espécies perenes, com estiletos multipartidos, pólen com um poro central proximal (Takahashi & Sohma, 1982) e que produzem tubérculos (Diels, 1906; Seine & Barthlott, 1994; Figura 19). Algumas espécies possuem caule volúvel que pode atingir 3 metros de comprimento (*e.g.* *Drosera erythrogyna* – não incluída no presente estudo), utilizando-se das folhas pegajosas (pela presença de emergências glandulares) para se ampararem em arbustos (Lowrie, 1989). Historicamente, Planchon (1848) aceitou a classificação anteriormente proposta por De Candolle (1824), o qual concebeu *Ergaleium* como seção. Diels (1908) elevou o táxon ao *status* de subgênero, subordinando a este duas seções, *Polypeltes* e *Erythrorrhiza* (esta última descrita como série por Planchon [1848]). DeBuhr (1977), baseado em características do hábito, morfo-anatômicas caulinares e foliares, propôs a seção *Stolonifera*. Marchant *et al.* (1982), posteriormente, restabeleceu a seção *Ergaleium* subordinada ao subgênero homônimo. A seção *Ergaleium* é caracterizada basicamente pela presença de caules eretos ou escandentes, *Erythrorrhizae* pelos caules reduzidos (roseta) e folhas não-peltadas e *Stoloniferae*, por sua vez, pelos caules também alongados e por folhas quase sempre não-peltadas. De acordo com a análise filogenética combinada, as seções *Ergaleium* e

Erythrorrhizae são polifiléticas (Figura 4). As análises das matrizes isoladas também não suportam a monofilia da seção *Ergaleium* (Figuras 1-3). A presença de tubérculos (caráter 61) para o grupo é uma importante adaptação para o período de dormência no período de estiagem, provavelmente uma sinapomorfia do subgênero. A forma caulescente das seções *Ergaleium* e *Stoloniferae* é apomórfica, provavelmente derivada da forma rosetada, como encontrada na seção *Erythrorrhizae* e nos grupos mais basais (Figura 4). A ausência de tubérculos para as seções *Lasiocephala* e *Coelophylla* (assim como para *D. hamiltonii*) pode ser resultante de uma reversão (caráter 61; Figura 4).

A seção monotípica *Coelophylla*, representada por *Drosera glanduligera* (Figura 13), é apresentada em mesmo clado junto com representantes da seção *Lasiocephala* (Figura 4). Habitante dos afloramentos graníticos sul-australianos (onde ocorre em distribuição disjunta) e da Tasmânia em densas populações, *Drosera glanduligera* é uma espécie de peculiar beleza pela coloração verde-clara intensa, perpetuando-se por meio de sementes, uma vez que tem ciclo de vida anual (Lowrie, 1989; Chen *et al.*, 1997). A seção *Lasiocephala* não constitui grupo monofilético devido às posições filogenéticas de *Drosera glanduligera* (seção *Coelophylla*) e *D. hamiltonii* (seção *Drosera*; Figura 4). A seção é atualmente formada por 14 espécies, das quais *Drosera brevicornis*, *D. darwinensis*, *D. dilatatopetiolaris*, *D. falconeri*, *D. fulva*, *D. lanata*, *D. ordensis*, *D. paradoxa*, *D. petiolaris* (esta também com ocorrência na Papua Nova Guiné; Figura 16) são tipicamente norte-australianas, *Drosera broomensis*, *D. caduca*, *D. derbyensis* e *D. kenneallyi* ocorrem no oeste-australiano e *D. caledonica* está confinada à Nova Caledônia (Lowrie, 1994; 1996a; 1996b; 1997). São espécies perenes, rosetadas, com raízes distintamente fasciculadas e basicamente cobertas de maneira densa por tricomas tectores longos (daí o epíteto *lanata* para uma das espécies). Durante a estação seca (maio a novembro), as plantas podem entrar em dormência, adquirindo uma forma compactada da roseta envolta pelos pecíolos persistentes carnosos. A presença de longos tricomas tectores também é uma importante adaptação, o qual protege a planta contra a dessecação, assim como serve para a captação de gotículas matutinas de orvalho que se condensam sobre a planta, acumulando-se no centro da roseta, fatalmente escoando-se às raízes (Lowrie, 1994). A seção *Lasiocephala* foi originalmente descrita por Planchon (1848), sendo subordinada à seção *Rossolis* e baixada ao *status* de série por Diels (1906), quando até então duas espécies tinham sido descritas (*D. petiolaris* e *D. caledonica*). Marchant *et al.* (1982), assim como Seine & Barthlott (1994), reconhecem *Lasiocephala* como seção. Das hipóteses filogenéticas, apenas a resultante da matriz morfológica corrobora a monofilia da seção *Lasiocephala*, suportada pela presença de

tricomas tectores nos pecíolos (caráter 9) e nas sépalas (caráter 34; Figura 1). Rivadavia *et al.* (2003), em análise do gene *rbcL*, demonstram a monofilia da seção. Entretanto, deve ser considerado que a análise do gene *rbcL* apenas incluiu *Drosera caduca* e *D. petiolaris* como representantes da seção *Lasiocephala*.



Figura 8. *Aldrovanda vesiculosa*. **Figura 9.** *Dionaea muscipula*. **Figura 10.** *Drosera regia*. **Figura 11.** *Drosera tomentosa*. **Figura 12.** *Drosera burmannii* (Fonte: 8-10, 12: L.Adamec; 11: V.F.O.Miranda).



Figura 13. *Drosera glanduligera*. **Figura 14.** *Drosera stenopetala*. **Figura 15.** *Drosera arcturi*. **Figura 16.** *Drosera petiolaris*. **Figura 17.** *Drosera paleacea* (notar as gêmulas no centro das rosetas). **Figura 18.** *Drosera cistiflora*. **Figura 19.** *Drosera erythrorrhiza* (Fonte: 13-19: L.Adamec).

História biogeográfica de Droseraceae – O padrão de distribuição dos representantes de Droseraceae é amplo, ocorrendo as espécies em ambos os hemisférios com exceção dos pólos (Diels, 1906). *Dionaea* ocorre atualmente nos Estados das Carolinas do Norte e do Sul (EUA); entretanto, no passado apresentava distribuição ampla na América do Norte (Juniper *et al.*, 1989), talvez sendo sua distribuição atual relictual (Miranda *et al.*, 2005b). *Aldrovanda*, por outro lado, encontra-se amplamente distribuída no globo, desde as regiões temperadas da Europa e Ásia até a zona tropical da África e Austrália (Diels, 1906; Juniper *et al.*, 1989). Registros fósseis de *Aldrovanda* foram descritos, na forma de pólen e principalmente sementes (Degreef, 1997; Schlauer, 1997), datados do Terciário ao Quaternário (do Pleistoceno ao Paleoceno; revistos por Degreef, 1997) provindos principalmente da Europa. Fragmentos de sementes de *Palaeoaldrovanda* (nome em virtude da similaridade às sementes de *Aldrovanda*) foram encontrados no sul da República Tcheca (Knoblock & Mai, 1984; 1986), datados do fim do Cretáceo (85 a 75 m.a.a.), figurando os registros fósseis mais antigos relacionados a Droseraceae e também dentre os mais antigos do clado das Caryophyllidae (*sensu* Magallón *et al.*, 1999). Os fósseis encontrados permitem presumir a existência de diversas espécies de *Aldrovanda* no passado (talvez quinze a vinte), indicando que deviam habitar ambientes pantanosos como a espécie atual (Mai, 1985; Schneider, 1990). Talvez o fóssil mais intrigante do grupo tenha sido o descoberto no sudeste da Alemanha, proveniente de *Aldrovanda inopinata* (Peters, 1963 *apud* Schlauer, 1997). Trata-se de porção da lâmina foliar, a qual já apresentava a armadilha do tipo ratoeira (*snap trap*), similar à presente na *Aldrovanda* atual. O fóssil foi datado de aproximadamente 8 m.a.a. (Mioceno Superior), delatando o hábito carnívoro já nessa época.

Considerando que o fóssil mais antigo foi encontrado na Europa (Knoblock & Mai, 1984; 1986), é plausível supor essa a região de origem da família. De qualquer forma, a distribuição ampla atual de *Aldrovanda* (Ásia, Europa, África e Austrália) dificulta ainda mais a estimativa. Os cladogramas de áreas (Figura 5), entretanto, não suportam a Europa como centro de origem da família. Por outro lado, esse continente se encontra em posição derivada como grupo-irmão do clado das Américas (Am. Norte-Am. Central-Am. Sul).

Os grupos mais basais de *Drosera* são representados por *Drosera regia* (sul da África) e *Drosera arcturi* (Sudeste da Austrália, Nova Zelândia e Tasmânia; Figura 4). Assim, é provável que a origem de *Drosera* tenha ocorrido no continente africano ou australiano, sendo impossível, com os dados disponíveis, precisar um deles. Atualmente, a maior parte das espécies do gênero se encontra na Austrália (aproximadamente 60 espécies) e na África (cerca de 30 espécies), confinadas principalmente no sul desse último continente.

Miranda *et al.* (2005b) sugerem a vicariância, resultante da separação das placas continentais do Gondwana, para explicar o padrão de distribuição de *Drosera*. Entretanto, os cladogramas de áreas encontrados (Figura 5) não demonstram um padrão típico gondwânico, sugerindo a ocorrência de outros eventos históricos. A evidência dos clados África-Madagascar, S/SO Austrália-Tasmânia, ou mesmo Indonésia-Ásia (presentes em todos os cladogramas de áreas) podem sugerir um padrão vicariante, porém a hipótese de dispersão não pode ser desconsiderada.

A maior parte das espécies do continente australiano se encontra no subgen. *Ergaleium* e nas seções *Lasiocephala*, *Bryastrum* e *Coelophylla*. A presença de espécies em porções insulares como Tasmânia e Nova Zelândia (*e.g.* *Drosera arcturi*, *D. glanduligera*, *D. peltata*, *D. pygmaea*) talvez possa ser explicada por dispersão à longa distância. O padrão de distribuição África-Austrália-Nova Zelândia (e ilhas adjacentes) e a sua similaridade biótica são amplamente relatados na literatura (revistos por Humphries & Parenti, 1999). Para explicar esse padrão de distribuição, diversos autores invocaram a teoria da tectônica de placas, assim inferindo como resultado do processo vicariante (Humphries & Parenti, 1999). Entretanto, diversos estudos têm demonstrado cada vez mais a ocorrência de eventos históricos como dispersão e migração (revistos por De Queiroz, 2005), muito mais recentes de que os processos tectônicos argumentados. Apesar de a flora neozelandesa ter sido atribuída como resultante de biotas relictuais desde quando o arquipélago fora ligado à placa continental, autores têm defendido a dispersão transoceânica de espécies de flora (talvez a maior parte das espécies atuais), o mesmo sendo atribuído para a Tasmânia (Pole, 1994; 2001; Winkworth *et al.*, 2002). A presença de espécies de *Drosera* em ilhas vulcânicas, como é o caso de *D. anglica* presente no arquipélago do Hawaii, se excluídos os fatores antrópicos, só pode ser explicada por dispersão transoceânica. Dispersão à longa distância já foi relatada para espécies de angiospermas dos continentes americano e australiano às ilhas do Hawaii (*e.g.* Asteraceae de acordo com Baldwin *et al.* [1990]; Goodeniaceae de acordo com Howarth *et al.* [2003]). É provável que a importância da dispersão e da migração a longas distâncias tenha sido subestimada, uma vez que a vicariância quase sempre é assumida *a priori* nos métodos para inferência biogeográfica (Cain *et al.*, 2000; De Queiroz, 2005).

A disjunção que ocorre entre *Drosera burmanni* (Ásia, Austrália e Indonésia) e *D. sessilifolia* (América do Sul), ambas pertencentes à mesma seção *Thelocalyx*, é no mínimo curiosa. Quando observadas lado a lado, a distinção entre as duas espécies muitas vezes é difícil de ser feita. Snyder (1994) demonstra a viabilidade dos híbridos entre as duas espécies, usando como corroboração à proximidade evolutiva das espécies. Talvez a

única razão que sustentou a presença de dois nomes específicos tenha sido a distribuição disjunta. *Drosera burmanni* apresenta padrões morfológicos com variações quando comparados espécimes de diversas localidades (o que nem por isso resultou em descrição de novos táxons); se *D. sessilifolia* ocorresse simpatricamente a *D. burmanni*, provavelmente não seria descrita como outra espécie. Miranda *et al.* (2005b) sugerem a presença de *D. sessilifolia* na América do Sul por dispersão à longa distância, provavelmente proveniente da Austrália (Rivadavia *et al.*, 2003). Os autores também sugerem a migração de espécies da América do Norte em direção à América Central e do Sul, hipótese plausível segundo os cladogramas de áreas (Figura 5).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albert, V. A., Williams, S. E. & Chase, M. W. Carnivorous plants: phylogeny and structural evolution. *Science*, v.257, p.1491-1495, 1992.
- APG - The Angiosperm Phylogeny Group. An ordinal classification for the families of flowering plants. *Ann.Missouri Bot. Gard.*, v.85(4), p.531-553, 1998.
- APG - The Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.141, p.399-436, 2003.
- Baum, D. A. & Shaw, K. L. Genealogical perspectives on the species problem. In "Experimental and Molecular Approaches to Plant Biosystematics.Proceedings of the Fifth International Symposium of the International Organization of Plant Biosystematists" (P. C. Hoch & A .G. Stephenson, Eds.), p.289-303, Missouri Botanical Garden, 1995.
- Behre, K. Physiologische und zytologische Untersuchungen über *Drosera*. *Planta*, v.7, p.208-306, 1929.
- Bobák, M.; Samaj, J.; Blehová, A.; Ovecka, M.; Novomeská, S. & Kristín, J. Morphology and untrastructure of isolated gemmae of *Drosera pygmaea* and their *in vitro* germination. *Biologia Plantarum*, v.41(2): 169-176, 1998.
- Boesewinkel, F.D. Ovule and seed development in Droseraceae. *Acta Botanica Neerlandica*, v.38, p.295-311, 1989.
- Bremer, K. The limits of amino acid sequence data in angiosperm phylogenetic reconstruction. *Evolution*, v.42, p.795-803, 1988.
- Brooks, D. R., van Veller, M. G. P. & McLennan, D. A. How to do BPA, really. *Journal of Biogeography*, v.28, p.345-358, 2001.
- Cain, M. L.; Milligan, B. G. & Strand, A. E. Long-distance dispersal in plant populations. *Am. J. Bot.*, v.87(9), p.1217-1227, 2000.
- Cameron, K. M.; Wurdack. K. J.; Jobson, R. W. Molecular evidence for the common origin of snap-traps among carnivorous plants. *American Journal of Botany*, v.89(2), p.1503-1509, 2002.
- Cheek, M. R. A new species of pygmy *Drosera* from Western Australia and a note on the status of sect. *Bryastrum* and sect *Lamprolepis*. *Phytologia*, v.68, p.85-89, 1990.

- Chen, L.; James, S. H. & Stace, H. M. Self-incompatibility, seed abortion and clonality in the breeding system of several Western Australian *Drosera* species (Droseraceae). *Aust. J. Bot.*, v.45: 191-201, 1997.
- Chomczynski, P., Mackey K., Drews R. & Wilfinger, W. DNAzol: A reagent for the rapid isolation of genomic DNA. *BioTechniques*, v.22, p.550-553, 1997.
- Chrtek, J. & Slavíková, Z. Comments on the families Drosophyllaceae and Droseraceae. *Casopis Narodního Muzea Rada Prirodovedna*, v.165(1-4), p.139-141, 1996.
- Chrtek, S. & Studnicka, M. Contribution to petal venation of selected carnivorous plants. *Preslia*, v.61, p.107-124, 1989.
- Cole, P. *A dictionary of carnivorous plant names – their etymological derivations and meanings*. rev. 1.2, 1996. Disponível em <<http://www.flytrap.demon.co.uk/cpdict.htm>>
- Conran, J. G., Jaudzems, V.G. & Hallam, N. D. Droseraceae germination patterns and their taxonomic significance. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.123, p.211-223, 1997.
- Cronquist, A. *An integrated system of classification of flowering plants*. New York: Columbia University Press, 1981. p.374-376.
- Cuénoud, P.; Savolainen, V.; Chatrou, L. W.; Powell, M.; Grayer, R. J. & Chase, M. W. Molecular phylogenetics of Caryophyllales based on nuclear 18S rDNA and plastid *rbcl*, *atpB* and *matK* DNA sequences. *American Journal of Botany*, v.89(1), p.132-144, 2002.
- Culham, A. & Gornall, R. J. The taxonomy significance of naphthoquinones in the Droseraceae. *Biochem. Syst. Ecol.*, v.22, p.507-515, 1994.
- De Candolle, A. P. Droseraceae. In: *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*. v.1, p. 317-320, 1824.
- De Queiroz, A. The resurrection of oceanic dispersal in historical biogeography. *Trends in Ecology and Evolution*, v.20(2), p.68-73, 2005.
- Debbert, P. Einige neue arten der gattungen *Drosera* (Droseraceae) und *Pinguicula* (Lentibulariaceae). *Mitt. Bot. Staatssamml. München*, v.30: 373-380, 1991.
- DeBuhr, L. E. Sectional reclassification of *Drosera* subgenus *Ergaleium* (Droseraceae). *Aust. J. Bot.*, v.25: 209-218, 1977.
- Degreef, J. D. Fossil *Aldrovanda*. *Carnivorous Plant Newsletter*, v.26, p.93-97, 1997.
- Diels, L. *Drosera*. In: Engler, A. *Das Pflanzenreich*. Leipzig: Wilhelm Engelmann. p.61-128, 1906.
- Doyle, J. J. Gene trees and species trees: Molecular systematics as one-character taxonomy. *Systematic Botany*, v.17, p.144-163, 1992.

- Edgecombe, G. D., Giribet, G. & Wheeler, W. C. Phylogeny of Henicopidae (Chilopoda: Lithobiomorpha): a combined analysis of morphology and five molecular loci. *Systematic Entomology*, v.27, p.31-64, 2002.
- Eichler, A. G. Droseraceae in C.F.P. Martius & A.G. Eichler, *Flora Brasiliensis*, v.14(2): 385-398, 1872.
- Farris, J. S., Källersjö, M., Kluge, A. G. & Bult, C. Testing significance of incongruence. *Cladistics*, v.10, p.315-319, 1995.
- Fay, M. F., Cameron, K. M., Prance, G. T., Lledó, M. D. & Chase, M. W. Familial relationships of *Rhabdodendron* (Rhabdodendraceae): Plastid *rbcL* sequences indicate a caryophyllid placement. *Kew Bull.*, v.52, p.923-932, 1997.
- Giribet, G. & Wheeler, W.C. On gaps. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v.13(1), p.132-143, 1999.
- Gladstein, D. & Wheeler, W. C. POY: Phylogeny reconstruction via optimization of DNA data. American Museum of Natural History, New York, EUA, 1996-2001. Programa e manual disponíveis em: <ftp://ftp.amnh.org/pub/molecular/poy/>.
- Goloboff, P. NONA (NO NAME) ver. 2. Publicado pelo autor, Tucumán, Argentina, 1999.
- Hall, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41, p.95-98, 1999.
- Hartmeyer, S. & Hartmeyer, I. Observations on a new *Drosera* species in the Ord River Region (Australia). *Carnivorous Plant Newsletter*, v. 30: 107-110, 2001.
- Howarth, D. G.; Gustafsson, M. H. G.; Baum, D. A. & Motley, T. J. Phylogenetics of the genus *Scaevola* (Goodeniaceae): implication for dispersal pattern across the Pacific Basin and colonization of the Hawaiian Islands. *Am. J. Bot.*, v.90(6), p.915-923, 2003.
- Humphries, C. J. & Parenti, L. R. *Cladistic Biogeography: Interpreting patterns of plant and animal distributions*. Oxford Biogeography Series , n.12., 2.ed., 1999.
- Janies, D. A. & Wheeler, W. C. Theory and practice of parallel direct optimization. In: DeSalle, R., Giribet, G. & Wheeler, W. C. (Ed.) *Molecular Systematics and Evolution: Theory and Practice*. Basel: Birkhäuser Verlag, 2002. p.115-123.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A. & Stevens, P. F. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA, EUA, 1999.
- Juniper, B. E., Robins, R. J. & Joel, D. M. *The carnivorous plants*. Oxford: Academic Press, 1989.

- Karlsson, P. & Pate, J. S. Resource allocation to asexual gemma production and sexual reproduction in South-western Australian pygmy and micro stilt-form species of sundew (*Drosera* spp., Droseraceae). *Aust. J. Bot.*, v.40: p.353-364, 1992.
- Knoblock, E. & Mai, D. H. Neue Gattungen nach Früchten and Samen aus dem Cenoman bis Maastricht (Kreide) von Mitteleuropa. *Feddes Repert* (Berlin), v.95, p.3-41, 1984.
- Knoblock, E. & Mai, D. H. In *Rozpravy Ustredniho Ustavu Geologickeho* (Praha), v.47, p.98, 169 e t.XXV, 1986.
- Länger, R., Pein, I. & Kopp, B. Glandular hairs in the genus *Drosera* (Droseraceae). *Pl. Syst. Evol.*, v.194, p.163-172, 1995.
- Laundon, J. R. & Basto, M. F. P. Droseraceae. In: *Flora de Moçambique* 63: 5-13, 1993.
- Lledo, M. D., Crespo, M. B., Cameron, K. M., Fay, M. F. & Chase, M. W. Systematics of Plumbaginaceae based upon analysis of *rbcL* sequence data. *Syst. Bot.*, v.23(1), p.21-29, 1998.
- Lowrie, A. *Carnivorous Plants of Australia*. University of Western Australia Press, Perth. v.2, 1989.
- Lowrie, A. *Drosera ordensis* (Droseraceae), a new tropical species of carnivorous plant from northern Australia. *Nuytsia*, v.9(3): 363-367, 1994.
- Lowrie, A. *Drosera keneallyi* (Droseraceae), a new tropical species of carnivorous plant from the Kimberley, northern Western Australia. *Nuytsia*, v.10(3):419-423, 1996a.
- Lowrie, A. New species in *Drosera* section *Lasiocephala* (Droseraceae) from tropical northern Australia. *Nuytsia*, v.11(1):55-69, 1996b.
- Lowrie, A. *Drosera paradoxa* (Droseraceae), a new species from northern Australia. *Nuytsia*, v.11(3):347-351, 1997.
- Magallón, S.; Crane, P. R. & Herendeen, P. S. Phylogenetic pattern, diversity, and diversification of eudicots. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, v.86, p.297-372, 1999.
- Maguire, B.; Wurdack, J.J. *et al.* The Botany of Guayana Highland- Part II. *Mem. N. Y. Bot. Gard*, v.9(3), p.333, 1957.
- Mai, D. H. Entwicklung den Wasser-and Sumpfpflanzen-Gesellschaften Europas von den Kreide bis ins Quartaer. *Flora*, v.176, p.449-511, 1985.
- Marchant, N. G., Aston, H. I. & George, A. S. Droseraceae. *Flora of Australia* v.8, p.9-64, 1982.
- Meimberg, H., Dittrich, P., Bringmann, G., Schlauer, J. & Heubl, G. Molecular phylogeny of Caryophyllidae *s.l.* based on *matK* sequences with special emphasis on carnivorous taxa. *Plant Biology*, v.2(2), p.218-228, 2000.

- Miranda, V. F. O. & Sajo, M. G. Aspectos morfo-anatômicos de três espécies de *Drosera* durante o desenvolvimento pós-seminal. *Acta Botanica Brasilica*, v.14(2), p.185-195, 2000.
- Miranda, V.F.O.; Martins, V. G.; Bacci Jr., M. & Furlan, A. Plant or fungal sequences? An alternative optimized PCR protocol to avoid ITS (nrDNA) misamplification. *Genetics and Molecular Biology*, 2004 (submetido).
- Miranda, V. F. O.; Furlan, A. & Bacci Jr., M. A comparative analysis of Droseraceae Salisb. and Drosophyllaceae Chrtek, Slavíková *et* Studnicka: morphology, ontogeny and distribution with systematic implications. *Annals of Botany*, 2005a (submetido)
- Miranda, V. F. O., Furlan, A.; Bacci Jr., M. & Martins, V. G. Phylogenetic relationships of Droseraceae based on morphological data and ITS rDNA sequences. *Plant Syst. Evol.*, 2005b (submetido).
- Nixon, K. C. WinClada ver. 1.0000. Publicado pelo autor, Ithaca, NY, USA, 1999-2002.
- Obermeyer, A. A. *Droseraceae*. In: Codd, L. E., De Winter, B., Killick, D. J. B. & Rycroft, H. B. (Ed.) Flora of Southern Africa. Pretoria: The Government Printer, v.13, 1970.
- Page, R. D. M. TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences*, v.12, p.357-358, 1996.
- Page, R. D. M. NDE: Nexus Data Editor. versão 0.5.0. University of Glasgow, 2001.
- Peters, I. Die Flora der oberpfälzer Braunkohlen and ihre ökologische and stratigraphische Bedeutung, *Palaeontographica Abt. B Paläophytologie*, v.112, p.1-50, 1963.
- Phillips, A., Janies, D. & Wheeler, W. Multiple sequence alignment in phylogenetic analysis. *Mol. Biol. Evol.*, v.16(3), p. 317-330, 2000.
- Planchon, M. J. E. Sur la famille des Droseracees – Revisio Systematica Droseracearum. *Ann. Sci. Nat. Bot. Ser. 9*, p.185-207, 1848.
- Pole, M. The New Zealand flora – entirely long-distance dispersal? *J. Biogeogr.*, v.21, p.625-635, 1994.
- Pole, M. S. Can long-distance dispersal be inferred from the New Zealand plant fossil record? *Aust. J. Bot.*, v.49, p.357-366, 2001.
- Rivadavia, F. Four new species of sundews, *Drosera* (Droseraceae), from Brazil. *Carnivorous Plant Newsletter*, v.32(3): 79-92, 2003.
- Rivadavia, F.; Kondo, K.; Kato, M. & Hasebe, M. Phylogeny of the sundews, *Drosera* (Droseraceae), based on chloroplast *rbcL* and nuclear 18S ribosomal DNA sequences. *American Journal of Botany*, v.90(1), p.123-130, 2003.

- Saint-Hilaire, A. Droseraceae. *Histoire des plantes les plus remarquables du Brésil et du Paraguay*, v.1, p.253-271, 1824.
- Santos, E. O gênero *Drosera* L. no Brasil. II - sobre *D. montana* St.Hil. *Bradea*, v.5(21), p.249-256, 1989.
- Schlauer, J. Nomenclatural synopsis of carnivorous phanerogamous plants. *Carnivorous Plant Newsletter*, v.15, p.59-117, 1987.
- Schlauer, J. Fossil *Aldrovanda* - Additions. *Carnivorous Plant Newsletter*, v.26: 98, 1997.
- Schlauer, J. *Drosera hartmeyerorum spec. nov.* (Droseraceae), a new sundew in sect. *Arachnopus* from Northern Australia. *Carnivorous Plant Newsletter*, v. 30: 104-106, 2001.
- Schneider, W. Floral succession in Miocene bogs of Central Eurora. *Proc. Sympos.*, p.205-212, 1990.
- Seine, R. & Barthlott, W. On the morphology of trichomes and tentacles of Droseraceae Salisb. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, v.67, p.345-366, 1993.
- Seine, R. & Barthlott, W. Some proposals on the infrageneric classification of *Drosera* L. *Taxon*, v.43, p.583-589, 1994.
- Silva, T. R. S. & Giulietti, A. M. Levantamento das Droseraceae do Brasil. *Bol. Bot. Univ. São Paulo*, v.16, p.75-105, 1997.
- Snyder, I. Relating *Drosera burmanni* and *Drosera sessilifolia*. *Flytrap News*, Dez., p.4-7, 1994.
- Sorenson, M. D. TreeRot. University of Michigan, Ann Arbor, Michigan, USA, 1996.
- Sorrie, B. A. Distribution of *Drosera filiformis* and *D. tracyi* (Droseraceae): phylogeographic implications. *Rhodora*, v.100(903), p.239-260, 1998.
- Stephens, E. L. A new sundew, *Drosera regia* (Stephens), from the Cape Province. *Trans. Roy. Soc. South Africa*, v.8, p.309-312, 1926.
- Sunderam, V. S. PVM: A Framework for Parallel Distributed Computing, *Journal of Concurrency: Practice and Experience*, v.2(4), p. 315-339, 1990.
- Susandarini, R.; Collins, G. G.; Lowrie, A. & Conran, J. Morphological variation within the *Drosera indica* (Droseraceae) complex in Northern Australia. *Aust. J. Bot.*, v.50: 207-214, 2002.
- Swofford, D. L, Olsen, G. J., Waddell, P. J. and Hillis, D. M. Phylogenetic inference. In: *Molecular Systematics* (D. M. Hillis, C. Moritz and B. K. Mable, Eds.), pp.407-425, Sinauer Associates, Inc., 2.ed., Sunderland, 1996.

- Swofford, D. L., 1999. PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (* and other methods), versão 4.0. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Takahashi, H. & Sohma, K. Pollen morphology of the Droseraceae and its related taxa. *Sci. Rep. Tohoku Univ. 4 ser Biol.*, v.38, p.81-156, 1982.
- Wheeler, W. C. Sequence alignment, parameter sensitivity, and the phylogenetic analysis of molecular data. *Syst. Biol.*, v.44, p.321-331, 1995.
- Wheeler, W. C. Optimization alignment: the end of multiple sequence alignment in phylogenetics? *Cladistics*, v.12, p.1-9, 1996.
- Wheeler, W. C. Measuring topological congruence by extending character techniques. *Cladistics*, v.15, p.131-135, 1999.
- Wiley, E. O. Vicariance biogeography. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v.19, p.513-542, 1988a.
- Wiley, E. O. Parsimony analysis and vicariance biogeography. *Systematic Zoology*, v.37, p.271-290, 1988b.
- Wiley, E. O., Siegel-Causey, D., Brooks, D. R. & Funk, V. A. *The Compleat Cladist: a primer of phylogenetic procedures*. Lawrence: University of Kansas Mus. Nat. Hist. Press, v.19, 1991.
- Williams, S. E., Albert, V. A. & Chase, M. W. Relationships of Droseraceae: A cladistic analysis of *rbcL* sequence and morphological data. *American Journal of Botany*, v.81(8), p.1027-1037, 1994.
- Winkworth, R.C.; Wagstaff, S. J.; Glenny, D. & Lockhart, P. J. Plant dispersal N.E.W.S. from New Zealand. *Trends Ecol. Evol.*, v.17, p.514-520, 2002.
- Wynne, F. E. *Drosera* in Eastern North America. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, v.71(2): 166-174, 1944.

APÊNDICE II

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de diversos estudos filogenéticos terem demonstrado a monofilia de Droseraceae e sua posição dentro de Caryophyllales, as relações entre *Drosera*, *Dionaea* e *Aldrovanda* ainda são controversas. O estudo filogenético apresentado pelo Capítulo 1 baseou-se em dados moleculares dos genes plastidiais *atpB*, *matK* e *rbcL*, assim como do gene 18S do DNA ribossomal nuclear, tendo como objeto de estudo representantes de Caryophyllales *s.l.*, dentre elas Droseraceae, Frankeniaceae, Drosophyllaceae, Nepenthaceae, Ancistrocladaceae, Dioncophyllaceae, Plumbaginaceae e Polygonaceae. As análises foram realizadas com o método de otimização direta, assim como foram testados 16 parâmetros de custos (penalidades para GAPS, transversões e transições) e estimada a congruência entre as quatro matrizes de dados (*atpB*, *matK*, *rbcL* e 18S) através do índice ILD (*Incongruence Length Difference*). A hipótese que maximizou a congruência dos dados foi a realizada com pesagem 121 (GAPS:transversões:transições). A análise combinada apresentou Droseraceae como grupo-irmão de Nepenthaceae. A monofilia de Droseraceae foi suportada, porém o gênero *Drosera* demonstrou ser parafilético se forem consideradas *Drosera arcturi* e *D. regia*. Para que a monofilia de *Drosera* seja mantida, é necessário o reconhecimento do gênero *Freatulina* Chrtek et Slavíková, agrupando assim duas espécies (*F. arcturi* e *F. regia*). A carnivoría em Caryophyllales provavelmente surgiu em um único evento histórico, tendo sido perdida completamente para Ancistrocladaceae e parcialmente para Dioncophyllaceae. O cladograma apresentado suporta com alta confiança a homologia entre as armadilhas de *Dionaea* e *Aldrovanda*.

No Capítulo 2 foi demonstrada a análise filogenética de 90 espécies de Droseraceae representadas pelos gêneros *Aldrovanda*, *Dionaea* e *Drosera* spp. Foram representados três subgêneros e nove seções do gênero *Drosera*. Para a análise foram empregados o gene *matK* (DNA plastidial) e a região ITS do DNA nuclear ribossomal. Foram analisados também 61 caracteres morfo-anatômicos, parte deles obtida em estudos prévios. Através do método filogenético de otimização direta e com a análise de sensibilidade e o emprego de diversos parâmetros de custos de substituições (16 parâmetros diferentes), foi buscada a hipótese filogenética que minimizou a incongruência das diversas matrizes de dados (*matK*, região ITS e morfologia). De acordo com a hipótese encontrada

pela análise combinada (*matK*+*ITS*+morfologia), *Aldrovanda* e *Dionaea* são grupos basais quando comparados a *Drosera*. A hipótese filogenética demonstrou a parafilia de diversos táxons infragênicos de *Drosera* (e.g. sec. *Drosera*, sec. *Ergaleium*, sec. *Lasiocephala*), indicando a necessidade de novos arranjos taxonômicos. O cladograma de áreas resultante da análise BPA (*Brooks Analysis Parsimony*) não apresentou um padrão gondwânico típico, assim outros eventos históricos devem ter ocorrido (como dispersão à longa distância) para a definição do padrão de distribuição atual de Droseraceae.