

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)
autor(a), o texto completo desta tese
será disponibilizado somente a partir
de 27/02/2022.

UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE BOTUCATU
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

Filogenia, biogeografia e evolução de estruturas secretoras de
representantes da subtribo Cajaninae (Leguminosae,
Papilionoideae, Phaseoleae)

Wanderleia de Vargas Araujo

**Tese apresentada ao Instituto de
Biotecnologia, Câmpus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Doutor em Ciências Biológicas
(Botânica), AC: Sistemática Vegetal**

BOTUCATU – SP

2019



UNESP - UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CÂMPUS DE BOTUCATU
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS

Filogenia, biogeografia e evolução de estruturas secretoras de
representantes da subtribo Cajaninae (Leguminosae,
Papilionoideae, Phaseoleae)

Wanderleia de Vargas Araujo

Prof^ª Dr^ª Ana Paula Fortuna Perez

Orientadora

Prof^ª Dr^ª Silvia Rodrigues Machado

Co-Orientadora

Dr. Mohammad Vatanparast

Co-Orientador

**Tese apresentada ao Instituto de
Biociências, Câmpus de Botucatu,
UNESP, para obtenção do título de
Doutor em Ciências Biológicas (Botânica),
AC: Sistemática Vegetal**

BOTUCATU - SP

2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Araujo, Wanderleia de Vargas.

Filogenia, biogeografia e evolução de estruturas secretoras de representantes da subtribo Cajaninae (Leguminosae, Papilionoideae, Phaseoleae) / Wanderleia de Vargas Araujo. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Ana Paula Fortuna Perez

Coorientador: Silvia Rodrigues Machado

Coorientador: Mohammad Vatanparast

Capes: 20302002

1. Leguminosa. 2. Vesícula seminal. 3. Botânica - Classificação. 4. Tricomas. 5. Filogenia. 6. Plantas - Distribuição geográfica.

Palavras-chave: Fabaceae; Glândulas vesiculares; Reconstrução ancestral; Sistemática vegetal; Tricomas de base bulbosa.

Dedico esta tese aos amores da minha vida: meus amados pais Vanderlei e Cleusa, minhas irmãs, Diana e Wandriane, e ao meu fiel companheiro Leandro; pelo apoio e por serem tão amorosos, fazendo minha vida maravilhosamente feliz!

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer imensamente a Deus e Nossa Senhora, quem me conhece sabe a afinidade que tenho com essas doçuras na minha vida. Quando fui a Botucatu fazer a prova de ingresso ao doutorado pedi a divina proteção, Deus me incentivou tanto que me fez ingressar da melhor forma possível, assim me mostrando o quanto Ele estaria comigo em qualquer circunstância, e assim o fez e ainda faz...

Eu que sempre fui presenteada com uma família maravilhosa, não poderia de deixar de agradecer a cada um deles, em especial aos amores da minha vida, meu amado e anjinho pai Vanderlei, minha mãe amorosa Cleusa e minhas irmãs incentivadoras e generosas Diana e Wandriane, e ao meu irmão emprestado Davi. Obrigada família amada, vocês são sem dúvida uma parte muito significativa na minha vida feliz, e grande parte do motivo de eu conseguir vencer obstáculos, até mesmo quando eles parecem ser maiores que o mundo.

Ao meu fiel companheiro, amigo de todas as horas e maior parceiro de vida eu gostaria de agradecer também. Leandro, sem dúvida nenhuma, esse sonho só foi possível de ser realizado porque sonhamos juntos, e você, com sua hombridade e fidelidade não se ausentou nenhum momento, sem você eu não teria conseguido. Obrigada pelos ensinamentos, paciência e amor dedicados diariamente. A uma pequena parte de mim, eu deixo aqui um singelo agradecimento, filha amada Maria Rita, você com certeza já é o meu melhor motivo de sorrir. Também quero agradecer a minha querida sogra Maria Auxiliadora, tratando-me sempre com carinho e dedicação de uma mãe.

Não poderia deixar de agradecer imensamente aos meus professores, todos que fizeram parte do meu crescimento profissional e pessoal, em especial a minha querida orientadora, e hoje também amiga, Ana Paula. Obrigada Aníssima, você sem dúvida nenhuma foi fundamental para meu crescimento profissional e pessoal, obrigada pelos ensinamentos no âmbito da sistemática e da vida, pelas risadas e pelos dias nublados também. Bem sabemos o que passamos para conseguir terminar um trabalho tão abrangente e árduo, não sei quanto a você, mas eu não tinha ideia da dimensão que estava abraçando lá em 2015, quando me propôs trabalhar com esse grupo tão lindo e diverso. Apesar de alguns dias difíceis, minha memória prevalecerá com certeza dos dias felizes e sempre dos dias de muito aprendizado... Obrigada!

Também deixo aqui meu sincero agradecimento à minha amada co-orientadora Silvia Machado, uma verdadeira inspiração de profissional e de pessoa, sempre tão animada e nos ensinando com entusiasmo e disposição. Obrigada querida Sílvia, quero ser um pouquinho igual a você quando eu crescer!! Ao meu segundo co-orientador Mohammad Vatanparast, eu deixo também um grande agradecimento, pois sem sua ajuda nós não conseguiríamos concluir com máxima confiança nos nossos dados. Obrigada por sua dedicação e por gentilmente nos passar um pouco deste difícil mundo da filogenia.

A todos meus colegas de PG, sem exceção, quero agradecer, em especial as minhas amoras, que são como uma família que Botucatu me presenteou: Tayeme, Luísa e Katiane. Obrigada amigas queridas por fazerem meus dias mais leves, pelas ajudas no laboratório, pelos finais de semana em família, pelos risos e gentilezas diárias. Contem comigo para sempre!

Um super obrigada vai para minha amiga Elisa Cândido, agradeço por me ensinar a identificar *Eriosema*, por me receber gentilmente na sua casa, por me ensinar a extrair, amplificar e purificar DNA, enfim, por toda ajuda que nunca me negou, mesmo quando estava de férias, rsrs... muitíssimo obrigada. E a todos meus queridos do lab. LaPAV e Sistemática, em especial Diana, Yve, Danilo, Pedro e Thiago, eu agradeço pela ajuda, pelos cafés, churrascos e risadas.

Também agradeço a competência dos técnicos Henrique, Inara, Leonice e Davi (seção de PG), obrigada pela imensa ajuda de vocês durante este processo tão árduo, que muitas vezes foi facilitado por vocês através de seus ótimos trabalhos realizados. Aos herbários que cederam material para o desenvolvimento dessa tese, em especial ao herbário Kew, na pessoa do Dr. Gwil.

Agradeço ao CNPq (140598/2015-4) e à FAPESP (2015/13386-0), pelo financiamento durante a elaboração deste trabalho, por meio de bolsa de estudo, taxa de bancada e financiamentos destinados a este projeto. Agradeço aos membros da banca de qualificação (fevereiro de 2018) e desta banca (fevereiro de 2019) pela disponibilidade e sugestões dadas ao meu trabalho. Agradeço muito a UNESP – Botucatu, departamento de botânica e herbário BOTU e UNICAMP por todo suporte fornecido para a realização desta tese.

Um agradecimento muito especial ao Cajaninae Team, obrigada pelo imenso trabalho que realizamos juntos, sem nossa parceria supereficiente não conseguiríamos terminar com sucesso esse trabalho lindo.

Enfim, espero sinceramente não ter esquecido de ninguém e que todos sintam-se abraçados. Meu coração está repleto de gratidão e amor por todos vocês.

Sumário

| | |
|--|----|
| Resumo geral | 1 |
| General abstract | 2 |
| Introdução geral..... | 4 |
| Fig. 1..... | 9 |
| Fig. 2..... | 10 |
| Fig. 3..... | 11 |
| Referências bibliográficas | 12 |
| Revisiting the leaflet secretory structures in subtribe Cajaninae Benth. (Leguminosae, Phaseoleae)..... | 18 |
| ABSTRACT | 19 |
| INTRODUCTION..... | 20 |
| MATERIAL AND METHODS..... | 22 |
| Plant material..... | 22 |
| Light microscopy | 22 |
| Scanning Electron Microscopy (SEM) | 23 |
| RESULTS..... | 23 |
| Idioblasts | 24 |
| Vesicular glands..... | 24 |
| Bulbous-based trichomes | 25 |
| Secretory-base trichomes | 25 |
| Capitate trichomes | 26 |
| DISCUSSION..... | 26 |
| CONCLUSIONS | 31 |
| ACKNOWLEDGEMENTS | 33 |
| LITERATURE CITED..... | 33 |
| Table 1..... | 38 |
| Table 2..... | 46 |
| Fig. 1..... | 47 |
| Fig. 2..... | 48 |
| Fig. 3..... | 49 |
| Fig. 4..... | 50 |
| Fig. 5..... | 51 |
| Fig. 6..... | 52 |

| | |
|---|-----|
| Ultrastructure and secretion of glandular trichomes in species of subtribe Cajaninae Benth. (Leguminosae, Phaseoleae) | 53 |
| Abstract..... | 54 |
| INTRODUCTION..... | 55 |
| MATERIALS AND METHODS | 56 |
| Plant material | 56 |
| Histochemical tests | 56 |
| Transmission electron microscopy | 56 |
| RESULTS..... | 57 |
| DISCUSSION..... | 59 |
| LITERATURE CITED..... | 63 |
| Table 1..... | 69 |
| Table 2..... | 69 |
| Table 3..... | 70 |
| Fig. 1..... | 72 |
| Fig. 2..... | 73 |
| Fig. 3..... | 74 |
| Fig. 4..... | 75 |
| Fig. 5..... | 76 |
| Fig. 6..... | 77 |
| Phylogeny and secretory structures evolution of the giant Cajaninae subtribe (Leguminosae, Papilionoideae, Phaseoleae) | 79 |
| Abstract..... | 79 |
| INTRODUCTION..... | 80 |
| MATERIALS AND METHODS | 83 |
| Taxon Sampling..... | 83 |
| DNA Extraction, Amplification, and Sequencing | 83 |
| Phylogenetic analysis..... | 84 |
| RESULTS..... | 86 |
| DISCUSSION..... | 88 |
| LITERATURE CITED..... | 93 |
| Table 1..... | 96 |
| Table 2..... | 109 |
| Fig. 1..... | 111 |
| Fig. 2..... | 112 |
| Fig. 3..... | 113 |

| | |
|---------------------------|-----|
| Fig. 4..... | 114 |
| Fig. 5..... | 122 |
| Fig. 6..... | 124 |
| Fig. 7..... | 125 |
| Fig. 8..... | 126 |
| Fig. 9..... | 127 |
| Fig. 10 | 129 |
| Considerações finais..... | 129 |

Resumo geral

Leguminosae é a terceira maior família dentre as Angiospermas, é cosmopolita, podendo ocorrer em florestas tropicais úmidas, florestas secas, savanas, regiões mediterrâneas e desérticas. Papilionoideae, subfamília com maior riqueza de espécies de Leguminosae, apresenta Phaseoleae como uma de suas tribos de maior importância econômica e alto número de espécies. Cajaninae, por sua vez, é a maior subtribo de Phaseoleae, destacando-se por apresentar aproximadamente 490 espécies distribuídas em 10 gêneros. Os representantes desta subtribo possuem distribuição pantropical, com apenas *Rhynchosia* e *Eriosema* ocorrendo nos neotrópicos. De modo geral, as espécies desta subtribo ocorrem em campos gramíneos, florestas tropicais secas, regiões semiáridas, áreas degradadas e ambientes propensos à passagem do fogo. A ocorrência das espécies de Cajaninae nestes diferentes ambientes pode estar relacionada à presença de estruturas secretoras, como glândulas vesiculares e tricomas de base bulbosa. Apesar do conhecimento sobre a existência destas estruturas peculiares neste grupo desde o século 19, nenhum estudo detalhado de anatomia, ultraestrutura ou estudos com enfoque evolutivo haviam sido realizados. A subtribo tem sido considerada monofilética, porém os poucos trabalhos filogenéticos existentes abordam Phaseoleae como um todo, possuindo uma amostragem muito baixa dos representantes de Cajaninae, o que não esclarece sua monofilia. Considerando o pouco conhecimento sobre as relações filogenéticas em Cajaninae, sobre as estruturas secretoras que são peculiares a este grupo e os poucos estudos abrangentes da subtribo, este estudo teve por objetivos: testar a monofilia da subtribo (e de seus gêneros), esclarecer a delimitação dos gêneros pertencentes à Cajaninae (especialmente *Rhynchosia* e *Eriosema*), conhecer tipos, ocorrência, composição química dos exsudatos, além do mecanismo de secreção das estruturas secretoras e reconstruir estados ancestrais baseados nas estruturas secretoras dos representantes da subtribo. Como resultados principais, foi obtido completo levantamento das estruturas secretoras ocorrentes na subtribo Cajaninae, descrição dos tipos de material secretados por estas glândulas e sua ultraestrutura, e uma abrangente filogenia, bem como a evolução ancestral das glândulas amplamente distribuídas neste grupo. É importante salientar que todos estes objetivos foram cumpridos com cobertura amostral significativa. Sendo assim é possível afirmar que: a glândula vesicular é unificadora do grupo; lipídeos e compostos fenólicos são os principais compostos secretados pelas estruturas secretoras da subtribo; estas substâncias agem principalmente na defesa contra herbívoros e contra possíveis danos causados pela exposição dos raios UV, aos quais estão sujeitos os representantes do grupo; além disso, as estruturas subcelulares estão diretamente ligadas aos compostos secretados pelas glândulas analisadas; quanto à filogenia, pode-se afirmar o monofiletismo da subtribo, assim como dos gêneros *Adenodolichos*, *Flemingia*, *Dunbaria*, *Cajanus* e *Eriosema*; e em relação a evolução ancestral das estruturas secretoras somente a glândula vesicular e o tricoma capitado estiveram presentes no ancestral hipotético de Cajaninae. Estudos de datação molecular e história biogeográfica da subtribo estão sendo desenvolvidos para melhor compreensão da sistemática do grupo, além disso mais estudos com enfoque sistemático

e taxonômico serão realizados, principalmente nos gêneros não monofiléticos da subtribo Cajaninae.

Palavras-chave: Fabaceae; Glândulas vesiculares; Idioblastos; Reconstrução ancestral; Sistemática vegetal; Tricomas de base bulbosa;

General abstract

Leguminosae is the third largest family among Angiosperms, is cosmopolitan, occurring in humid tropical forests, dry forests, savannas, Mediterranean and desert regions. Papilionoideae, a subfamily with the highest species richness of Leguminosae, presents Phaseoleae as one of its tribes of major economic importance and high number of species. Cajaninae, in turn, is the largest subtribe of Phaseoleae, standing out to present approximately 490 species distributed in 10 genera. The representatives of this subtribe have pantropical distribution, with only *Rhynchosia* and *Eriosema* occurring in the neotropics. The species of this subtribe occur in greenfields, dry tropical forests, semi-arid regions, degraded areas and environments prone to fire. The occurrence of Cajaninae species in these different environments may be related to the presence of secretory structures, such as vesicular glands and bulbous based-trichomes. Despite the knowledge about the existence of these peculiar structures in this group since the 19th century, no detailed study of anatomy, ultrastructure or evolutionary approach studies had been performed. The subtribe has been considered monophyletic, but the few existing phylogenetic works address Phaseoleae as a whole, having a very low sampling of Cajaninae representatives, which does not clarify its monophyly. Considering the little knowledge about the phylogenetic relationships in Cajaninae, on the secretory structures that are peculiar to this group and the few comprehensive studies of the subtribe, this study had as objectives: to test the subtribe monophyly (and its genera), to clarify the delimitation of genera belonging to Cajaninae (especially *Rhynchosia* and *Eriosema*), to know types, occurrence, chemical composition of the exudates, besides the mechanism of secretion of the secretory structures and to reconstruct ancestral states based on the secretory structures of the subtribe representatives. As main results were obtained a complete survey of the secretory structures occurring in the Cajaninae subtribe, a description of the types of material secreted by these glands and their ultrastructure, and a comprehensive phylogeny, as well as the ancestral evolution of the glands widely distributed in this group. It is important to note that all these objectives were met with significant sample coverage. Thus, it can be stated that: the vesicular gland is unifying the group; lipids and phenolic compounds are the main compounds secreted by the secretory structures of the subtribe; these substances act mainly in the defense against herbivores and against possible damages caused by the exposure of UV radiation, to which the representatives of the group are subject; in addition, the subcellular structures are directly linked to the compounds secreted by the glands analysed; As for phylogeny, it can be affirm that Cajaninae is monophyletic, as well as the genera *Adenodolichos*,

Flemingia, *Dunbaria*, *Cajanus* and *Eriosema*; and in relation to the ancestral evolution of the secretory structures only the vesicular gland and the capitate trichome were present in the hypothetical ancestor of Cajaninae. Molecular dating studies and biogeographic history of the subtribe are being developed to better understand the systematics of the group, in addition, more studies with a systematic and taxonomic focus will be carried out, mainly in the non-monophyletic genera of the Cajaninae subtribe.

Keywords: Ancestral reconstruction; Bulbous-based trichomes; Fabaceae; Idioblasts; Vesicular glands

Introdução geral

Leguminosae Juss., terceira maior família dentre as Angiospermas, compreende cerca de 770 gêneros, mais de 19.500 espécies e possui distribuição cosmopolita (Schrire et al. 2005; LPWG 2017). A importância econômica deste grupo de plantas se dá pela utilização da madeira como matéria-prima para móveis e instrumentos musicais; também são fonte de alimento, forrageiras, e indicadas para a recuperação de áreas degradadas; além disso, seus compostos secundários (resina, óleos e taninos) são amplamente extraídos para fabricação de medicamentos, corantes e vernizes (Lewis et al. 2005; LPWG 2017).

Esta família ocorre em florestas tropicais úmidas na África, América do Sul e Ásia, ainda dominam florestas secas e savanas em todo o trópico, e também ocorrem nas regiões mediterrâneas, desérticas e temperadas, até altas latitudes e elevações (Schrire et al. 2005). Leguminosae foi descrita pela primeira vez em *Familles des plantes* (Adanson 1763), e desde então as principais características morfológicas que delimitam a família, com algumas exceções, são: o ovário unilocular súpero, placentação parietal e fruto do tipo legume com suas variações (Lewis et al. 2005). A família é considerada monofilética e atualmente está dividida em seis subfamílias: Caesalpinioideae DC. (incluindo o clado Mimosoide), Cercidoideae LPWG, Detarioideae Burmeist., Dialioideae LPWG, Duparquetioideae LPWG e Papilionoideae DC. (LPWG 2017).

Papilionoideae é a subfamília mais diversa em número de gêneros e espécies de Leguminosae (Polhill 1994), com aproximadamente 500 gêneros e 14.000 espécies (LPWG 2017). As características morfológicas desta subfamília incluem: flor papilionada [com 5 pétalas, sendo: 1 pétala adaxial na posição média e mais externamente posicionada (estandarte/vexilo), 2 pétalas laterais (asas/alas), 2 pétalas que recobrem gineceu e androceu (pétalas da quilha/carena)]; sépalas unidas (pelo menos na base); radícula do embrião curva; e nódulos radiculares presentes (LPWG 2017). Estudos filogenéticos desenvolvidos com Leguminosae apontam a subfamília Papilionoideae como monofilética (Doyle et al. 2000; Pennington et al. 2001; Kajita et al. 2001; Herendeen et al. 2003; Wojciechowski 2003; Wojciechowski et al. 2004; LPWG 2017).

Papilionoideae possui 28 tribos (Lewis et al. 2005), dentre elas Phaseoleae, que se destaca por ser a mais importante economicamente, além de ser uma das maiores tribos em números de espécies, com aproximadamente 90 gêneros e 1.600 espécies (Schrire

2005). As principais características que definem este grupo de plantas incluem: eófilos simples e opostos, folhas trifolioladas com a base assimétrica, inflorescências em pseudorracemos, espessa camada de endexina sobre o grão de pólen, presença de estípelas e número cromossômico básico de 10 ou 11 (Lackey 1981; Bruneau et al. 1995).

Phaseoleae é considerada para ou polifilética segundo algumas análises filogenéticas moleculares (Bruneau et al. 1990, 1995; Doyle & Doyle 1993; Delgado-Salinas et al. 1993; Doyle et al. 1997, 2000; Kajita et al. 2001; Lee & Hymowitz 2001). Tradicionalmente está dividida em oito subtribos: Diocleinae, Phaseolinae, Cajaninae, Ophrestiinae, Clitoriinae, Kennediinae, Glycininae e Erythrinae (Lackey 1981). A classificação infratribal foi primeiramente circunscrita por Bentham (1837) e desde então não há um consenso com relação ao reconhecimento das subtribos e suas delimitações entre os sistemas taxonômicos propostos (Bruneau et al. 1995).

A classificação infratribal proposta por Lackey (1981), que reconheceu oito subtribos, é a que mais se aproxima daquela de Bentham (1837), que exclui a subtribo Galactieae e Rhynchosieae de Bentham (1837, 1865) e adiciona a subtribo Ophrestiinae. Já Baudet (1978) reconheceu três subtribos (Cajaninae, Glycininae e Phaseolinae) e estabeleceu vários grupos dentro destas subtribos; sendo alguns deles equivalentes às subtribos de outros estudiosos, como por exemplo, o grupo Kennediastreae que é análogo a Kennediinae de Bentham (1837) e Lackey (1981).

Alguns tratamentos anatômicos foram feitos na tribo Phaseoleae, principalmente aqueles referenciados nas obras de Metcalfe & Chalk (1950) e Solereder (1908). Dois trabalhos de destaque foram realizados por Debold (1892) e por Lackey (1978). Estes estudos mostraram a variação da morfologia de tricomas dentro de Phaseoleae, e assim separaram alguns gêneros pelo tipo e pela presença destes tricomas. No estudo de Lackey (l.c.), admite-se que Cajaninae é a subtribo mais “consistente” de Phaseoleae, por seus representantes possuírem estruturas secretoras exclusivas, genericamente denominadas glândulas vesiculares e tricomas de base bulbosa, que estão distribuídas por todo o corpo da planta (Fig. 1-3). Através de nossos estudos sabemos que glândulas vesiculares são as únicas estruturas exclusivas desta subtribo, ademais, Cajaninae também possui tricomas de base secretora em alguns dos seus representantes (Cândido et al. 2016; Vargas et al. 2018a). Além destas estruturas secretoras, Cajaninae possui outras características peculiares que unem o grupo, como: ausência de bractéolas e canavanina e presença de

leucoantocianinas (Baudet 1978; Lackey 1977, 1981), exceto no gênero *Adenodolichos* Harms.

Estudos combinando dados morfológicos e informações de análises filogenéticas são promissores para o entendimento de padrões de mudanças morfológicas (e.g. Fougère-Danezan et al. 2010; Nogueira et al. 2013) ou ainda para compreensão das relações entre famílias e gêneros (e.g. Anderberg e Stahl 1995; Redden et al. 2010; Soh & Panell 2011; Gomes-da-Silva et al. 2012; Monteiro et al. 2015). A reconstrução de caracteres trata-se da recuperação da informação sobre a modificação de pares de caracteres homólogos e diferentes entre si ao longo do tempo (Amorim 1994). Nosso estudo utilizou as estruturas secretoras como alvo para o melhor entendimento dos padrões de mudanças morfológicas, sendo assim podemos observar que as glândulas de Cajaninae se diversificaram diversas vezes dentro da subtribo, mostrando diversas homoplasias ao longo do cladograma.

A grande diversidade e riqueza de Cajaninae pode ser explicada por várias características, a exemplo da presença das estruturas secretoras, que desempenham papel importante para a inter-relação da planta com o ambiente. Estudos sobre a função secretora nas plantas, incluindo o conhecimento da composição química dos exsudatos e a atividade secretora em nível celular, podem fornecer dados importantes à compreensão da versatilidade funcional das glândulas e ajudar a compreender riqueza, diversificação e distribuição de um certo grupo de plantas (Roshchina & Roshchina 1993; Tresmondi et al. 2017). Através de nossas análises histoquímicas e ultraestruturais sabemos atualmente que as glândulas de Cajaninae secretam lipídeos e compostos fenólicos, estes exsudatos auxiliam este grupo de plantas na defesa contra herbívoros e contra possíveis danos causados pela radiação ultravioleta (Vargas et al. 2018b), eventos que ocorrem no ambiente em que os representantes de Cajaninae se distribuem.

Cajaninae é a maior subtribo de Phaseoleae em número de espécies (ca. 490), e está dividida em 10 gêneros, sendo eles: *Adenodolichos* (ca. 15 spp.), *Paracalyx* S.I. Ali (6 spp.), *Flemingia* Roxb. ex W.T. Aiton (ca. 30 spp.), *Carrissoa* Baker f. (1 sp.), *Chrysoscias* E. Mey. (3-4 spp.), *Cajanus* Adans. (34 spp.), *Dunbaria* Wight & Arn. (20 spp.), *Bolusafra* Kuntze (1sp.), *Eriosema* (DC.) Desv. (ca. 150 spp.) e *Rhynchosia* Lour. (ca. 230 spp.) (Lewis et al. 2005).

Os membros desta subtribo se distribuem desde a região paleotropical até regiões temperadas do Velho Mundo, além de ocorrerem também nas regiões neotropical e subtropical, principalmente em ambientes secos e quentes, como savanas e o Cerrado (Schrire 2005; Cândido 2018). A maioria das espécies de Cajaninae (ca. 400) está distribuída no Velho Mundo, com exceção de aproximadamente 90 espécies pertencentes aos gêneros *Eriosema* e *Rhynchosia*, que possuem distribuição pantropical. No Brasil, a subtribo está representada apenas pelos dois últimos gêneros, com aproximadamente 34 e 19 espécies, respectivamente (Cândido et al. 2014a, b, 2016; Fortuna-Perez et al. 2017; Bezerra et al. in press.).

Morfologicamente, os membros de Cajaninae se caracterizam por apresentar hábito subarborescente a herbáceo, folhas trifolioladas (ou unifolioladas em *Eriosema* e *Rhynchosia*, ou pentafolioladas em *Rhynchosia* e *Adenodolichos*), flores amarelas, alaranjadas a avermelhadas, dispostas geralmente em racemos laxos ou congestos e legumes, ora com duas sementes (em *Eriosema*, *Rhynchosia*, *Paracalyx*, *Flemmingia*, *Carrissoa* e *Chrysoscias*), ora com três ou mais sementes (em *Bolusafra*, *Cajanus*, *Dunbaria* e *Adenodolichos*) (Gear 1970, 1978; Lackey 1981; Harms 1904).

Estudos moleculares de DNA de cloroplasto apontaram Cajaninae como monofilética (Bruneau et al. 1995; Egan et al. 2016; LPWG 2017), contudo vale ressaltar que estes estudos possuem amostragem muito baixa e nenhum deles é focado na subtribo, ou qualquer um dos seus gêneros. Através de análises de DNA das regiões de ITS (nuclear) e rpl32-trnL (UAG) e trnQ (UUG) -5'rps16 (cloroplasto), nossos resultados apontam que Cajaninae é monofilética, bem como os gêneros *Eriosema*, *Flemmingia* e *Adenodolichos*. Os táxons de Cajaninae compartilham muitas características morfológicas e isso pode esclarecer um pouco o arranjo dos táxons nas árvores filogenéticas. É importante salientar que nossa amostragem é ampla, com mais da metade dos representantes da subtribo, além de nossos estudos abordarem morfologia, anatomia, ultraestrutura e filogenia, reforçando nossas conclusões sobre a homogeneidade do grupo, contudo análises de filogenômica podem ser necessárias para um completo entendimento das relações entre os táxons do grupo.

Diante do exposto e considerando que a revisão bibliográfica mostra que existem estruturas secretoras peculiares a este grupo, primeiramente estudadas por Debold (1892) e Lackey (1972) em alguns táxons de Phaseoleae, o primeiro capítulo desta tese apresenta uma revisita aos tricomas foliares ocorrentes em Cajaninae, ampliando a amostragem

(164 táxons da subtribo) e aprofundando as descrições sobre cada tipo de estrutura secretora existente nesta subtribo [Revisiting the leaflet secretory structures in subtribe Cajaninae Benth. (Leguminosae, Phaseoleae)]. Este capítulo foi publicado eletronicamente na revista *International Journal of Plant Sciences* em agosto de 2018. Adicionalmente, nenhum estudo sobre a ultraestrutura e a histoquímica dos tricomas secretores de Cajaninae havia sido conduzido. Neste contexto, o segundo capítulo da presente tese tratou sobre as conexões existentes entre as secreções glandulares e as estruturas subcelulares de três principais glândulas de Cajaninae [Ultrastructure and secretion of glandular trichomes in species of subtribe Cajaninae Benth (Leguminosae, Phaseoleae)]. Este capítulo foi publicado eletronicamente na revista *Protoplasma* em setembro de 2018. Em relação ao pouco conhecimento sobre as relações filogenéticas na subtribo Cajaninae, o terceiro capítulo retratou a filogenia molecular de Cajaninae, com uma ampla amostragem, a fim de verificar sua monofilia e examinar as relações entre seus gêneros. Além disso, provemos a reconstrução de estados ancestrais das estruturas secretoras da subtribo [Filogenia e evolução de caracteres na subtribo Cajaninae (Leguminosae – Phaseoleae)].

Sendo assim, esta tese atendeu os objetivos propostos desde o seu projeto inicial: i) conhecer os tipos, a ocorrência, a composição química dos exsudatos e o mecanismo de secreção das estruturas secretoras de Cajaninae; ii) testar a monofilia da subtribo; iii) esclarecer a delimitação dos gêneros pertencentes a Cajaninae, especialmente *Rhynchosia* e *Eriosema*; e iv) reconstruir os estados ancestrais baseados nas estruturas secretoras dos representantes desta subtribo.

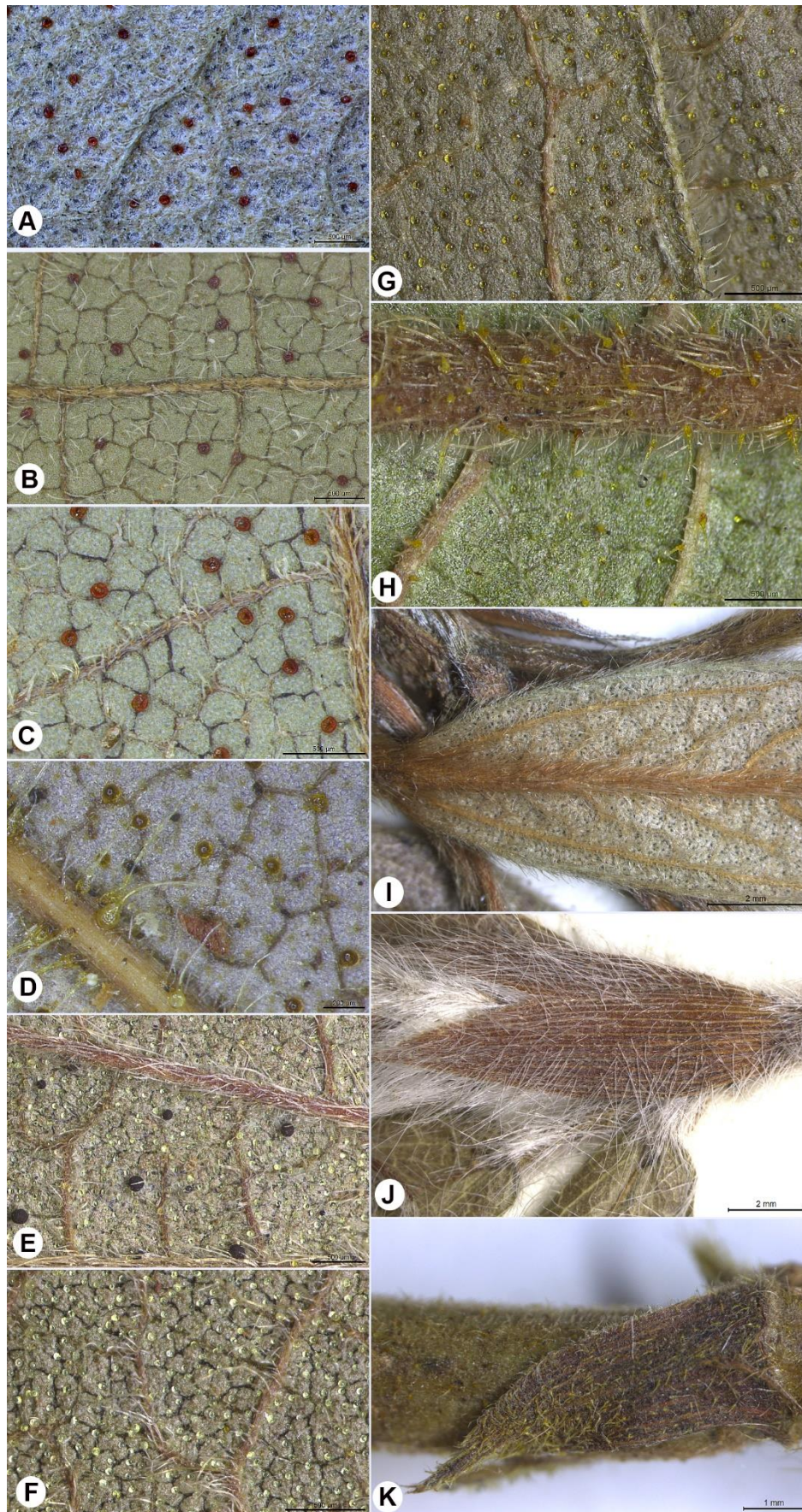


FIG 1: Tricomas glandulares e não glandulares em representantes da subtribo Cajaninae. A. glândulas vesiculares em face abaxial de folíolos de *A. baumii*, B. *A. punctatus*, C. *A.*

rhomboideus, E-F. *E. platycarpon*, G. *E. campestre* var. *delicatula*. D e H. glândulas vesiculares e tricomas de base bulbosa em face abaxial de folíolos *B. bituminosa* (D) e *E. campestre* var. *campestre* (H). I. tricomas tectores em face abaxial de folíolo de *E. violaceum*. J-K. Estípulas com tricomas tectores em *E. tacuareamboense* e glandulares *E. campestre* var. *campestre*.



FIG 2: Imagens de estereomicroscópio mostrando cobertura de tricomas tectores e glandulares sobre flores e inflorescências de representantes de Cajaninae. A. tricomas de base bulbosa sobre cálice de *B. bituminosa*. B-C. tricomas de base bulbosa sobre cálice de *E. campestre* var. *delicatula*. D. glândula vesicular sobre cálice de *E. campestre* var. *delicatula*. E-F. indumento amarelado em cálice de *E. obovatum*.

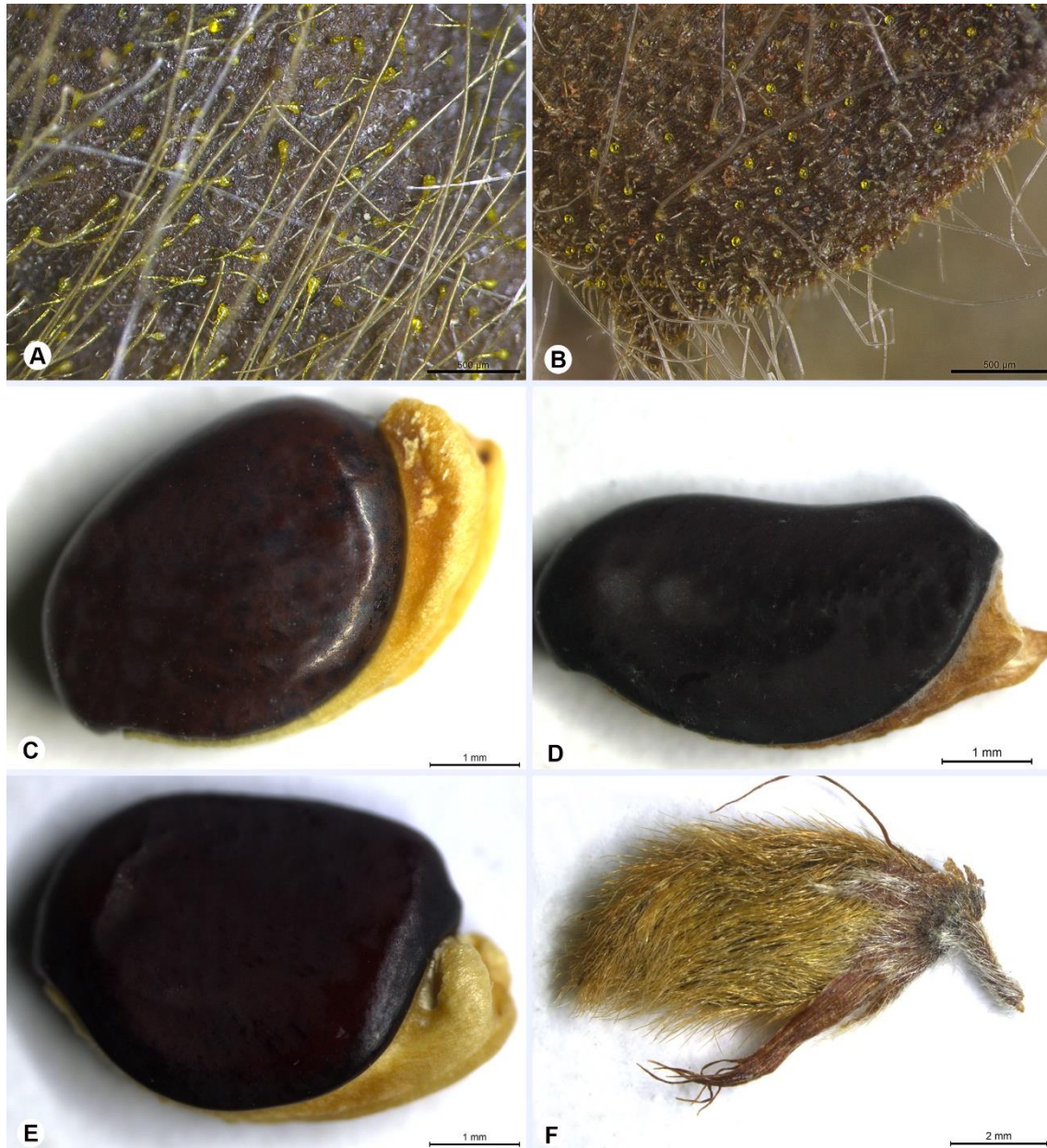


FIG 3: Imagens de estereomicroscópio mostrando morfologia das sementes e cobertura de tricomas tectores e glandulares sobre os frutos de representantes de Cajaninae. A. tricomas tectores e tricomas de base bulbosa em *E. campestre* var. *campestre*. B. tricomas tectores e glândulas vesiculares em fruto de *E. longifolium*. C-E. morfologia das sementes de *E. obovatum*, *E. platycarpon* e *E. tacuaremboense*. F. fruto imaturo densamente indumentado de *E. violaceum*.

Referências bibliográficas

- ADANSON, M. 1763. Familles des Plantes. (Vincent ed.). Paris. France. 640 p.
- AMORIM, D.S. 1994. Elementos básicos de sistemática filogenética. Sociedade Brasileira de Entomologia. São Paulo. 313p.
- ANDERBERG, A.A. & Stahl, B. 1995. Phylogenetic interrelationships in the order Primulales, with special emphasis on the Family circumscription. Canadian Journal of Botany 73: 1699-1730.
- BAUDET, J.C. 1978. Prodrome d'une classification generique des Papilionaceae – Phaseoleae. Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique/Bulletin van de Nationale Plantentuin van België 48 (1/2): 183-220.
- BENTHAM, G. 1837. Commentationes de Leguminosarum Generibus. Sollinger, Vienna.
- BENTHAM, G. 1865. Leguminosae. In G. Bentham & J.D. Hooker (eds.). Genera Plantarum, v.1, Lovell Reeve & Co., London, p.434-600.
- BEZERRA, L.M.P.A., CÂNDIDO, E.S., VARGAS, W., SERVILHA, J.H., MONTEIRO, T.C. & FORTUNA-PEREZ, A.P. (in press.) O gênero *Rhynchosia* Lour. (Leguminosae, Papilionoideae, Phaseoleae) no Brasil. Rodriguésia.
- BRUNEAU, A., DOYLE, J.J. & PALMER, J.D. 1990. A chloroplast DNA structural mutation as a subtribal character in the Phaseolae (Leguminosae). Systematic Botany 15: 378-386.
- BRUNEAU, A., DOYLE, J.L. & DOYLE, J.J. 1995. Phylogenetic evidence in Phaseoleae: evidence from chloroplast restriction site characters. In M.D. Crisp & J.J. Doyle (eds.). Advances in Legume Systematics: Phylogeny. Part 7. The Royal Botanic Gardens, Kew, p. 309-330.
- CANDIDO, E.S. 2018. Sistemática de *Eriosema* (Leguminosae: Papilionoideae, Phaseoleae): Sinopse Taxônomica de *Eriosema* no Brasil e Filogenia. Tese de doutorado. UNICAMP.

- CANDIDO, E.S., FORTUNA-PEREZ, A.P., ARANHA-FILHO, J.L.M. & BEZERRA, L.M.P.A. 2014a. A New Species of *Eriosema* (Leguminosae, Papilionoideae, Phaseoleae) from Minas Gerais, Brazil. *Phytotaxa* 178: 229-232.
- CANDIDO, E.S., FORTUNA-PEREZ, A.P., ARANHA-FILHO, J.L.M. & BEZERRA, L.M.P.A. 2014b. *Eriosema* (DC.) Desv. (Leguminosae-Papilionoideae) no Sudeste do Brasil. *Rodriguesia* 65: 885-916.
- CANDIDO, E.S., VARGAS, W., VATANPARAST, M., MANSANO, V.F., MACHADO, S.R. & FORTUNA-PEREZ, A.P. 2016. A New Species of *Eriosema* (Leguminosae, Papilionoideae, Phaseoleae) from Mato Grosso do Sul, Brazil, with a Secretary Structure Novel to the Genus. *Phytotaxa* 163: 122-130.
- DEBOLD, R. 1892. Beitrage zur anatomischen Charakteristik der Phaseoleen. PhD diss. Ludwig-Maximilians-Universitat Munchen, Munich.
- DELGADO-SALINAS, A., BRUNEAU, A. & DOYLE, J. J. 1993. Chloroplast DNA phylogenetic studies in the New World Phaseolinae (Leguminosae: Papilionoideae: Phaseoleae). *Systematic Botany* 18: 6-17.
- DOYLE, J.J., DOYLE, J.L., BALLENGER, J.A., DICKSON, E.E., KAJITA, T. & OHASHI, H. 1997. A phylogeny of the chloroplast gene *rbcl* in the Leguminosae: taxonomic correlations and insights into the evolution of nodulation. *American Journal of Botany* 84: 541-554.
- DOYLE, J.J., CHAPPILL, J.A., BAILEY, C.D. & KAJITA, T. 2000. Towards a comprehensive phylogeny of legumes evidence from *rbcl* sequences and non-molecular data. In P.S. Herendeen & A. Bruneau (eds.). *Advances in Legume Systematics. Part 9.* The Royal Botanic Gardens, Kew, p. 1-20.
- EGAN, A.N., VATANPARAST, M. & CAGLE, W. 2016. Parsing polyphyletic *Pueraria*: delimiting distinct evolutionary lineages through phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 104: 44–59.
- FORTUNA-PEREZ, A.P, SILVA, M.J., CÂNDIDO, E.S., VARGAS, W., MONTEIRO, T.C. & VATANPARAST, M. 2017. *Eriosema elegans* (Leguminosae, Papilionoideae): A new species from the Highlands of Goiás State, Brazil. *Phytotaxa* 296 (1): 081-087.

- FOUGÈRE-DANEZAN M, HERENDEEN PS, MAUMONT S, BRUNEAU A. 2010. Morphological evolution in the variable resin-producing Detarieae (Fabaceae): do morphological characters retain a phylogenetic signal? *Annals of Botany* 105: 311-325.
- GOMES-DA-SILVA, J., VARGENS, F.C.A., ARRUDA, R.C.O. & COSTA, A.F. 2012. A morphological cladistic analysis of the *Vriesea corcovadensis* Group (Bromeliaceae: Tillandsioideae), with anatomical descriptions: new evidence of the non-monophyly of the genus. *Systematic Botany* 37 (3): 641-654.
- GREAR, J.W. 1970. A revision of the American species of *Eriosema* (Leguminosae-Lotoideae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 20(3): 1-98.
- GREAR, J.W. 1978. A revision of the New World species of *Rhynchosia* (Leguminosae-Faboideae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 31: 1-168.
- HARMS, H. 1904. In: A. Engler (ed). *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 33: 179 (Bot. Jahrb. Syst.).
- HERENDEEN, P.S., BRUNEAU, A. & LEWIS, G.P. 2003. Phylogenetic relationships in caesalpinoid legumes: a preliminary analysis based on morphological and molecular data. In B.B. Klitgaard & A. Bruneau (eds.). *Advances in Legume Systematics: Higher Level Systematics. Part 10.* The Royal Botanic Gardens, Kew, p. 37-62.
- KAJITA, T., OHASHI, H., TATEISHI, Y., BAILEY, C.D. & DOYLE, J.J. 2001. *rbcl* and legume phylogeny, with particular reference to Phaseoleae, Millettieae and allies. *Systematic Botany* 26: 515-536.
- LACKEY, J.A. 1977. A revised classification of the tribe Phaseoleae (Leguminosae: Papilionoideae) and its relation to canavanine distribution. *Botanical Journal of the Linnean Society* 74:163-178.
- LACKEY, J.A. 1978. Leaflet anatomy of Phaseoleae (Fabaceae-Papilionoideae) and its relation to taxonomy. *Botanical Gazette* 139(4): 346-446.
- LACKEY, J.A. 1981. Phaseoleae. In R.M. Polhill & P.H. Raven (eds.). *Advances in Legume Systematics. Part 1.* The Royal Botanic Gardens, Kew, p.301-327.
- LEE, J. & HYMOWITZ, T. 2001. A molecular phylogenetic study of the subtribe Glycininae (Leguminosae) derived from chloroplast DNA *rps16* intron sequences. *American Journal of Botany* 88: 2064-2073.

- LEWIS, G.P., SCHRIRE, B.D., MACKINDER, B.A. & LOCK, M. (eds.) 2005. Legumes of the world. The Royal Botanic Gardens, Kew.
- LPWG (The Legume Phylogeny Working Group). 2017. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. *Taxon* 66: 44– 77.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. Anatomy of the dicotyledons leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economy uses. Oxford, Clarendon press. 275p.
- MONTEIRO, R.F., MATOVANI, A. & FORZZA, R.C. 2015. Morphological phylogenetic analysis of two early-diverging genera of Bromelioideae (Bromeliaceae). *Rodriguésia*. 66 (2): 505-521.
- NOGUEIRA A., EL OTTRA J.H.L., GUIMARÃES E., MACHADO, S.R. & LOHMANN L.G. 2013. Trichome structure and evolution in Neotropical lianas. *Annals of Botany* 112: 1331-1350.
- PENNINGTON, R.T., LAVIN, M., IRELAND, H., KLITGAARD, B.B., PRESTON, J. & HU, J.M. 2001. Phylogenetic relationships of basal papilionoid legumes based upon sequences of the chloroplast *trnL* intron. *Systematic Botany* 26: 537-556.
- POLHILL, R.M. 1981. Papilionoideae. In *Advances in legume systematics*. (R.M. Polhill & P.H. Raven, eds.). Royal Botanical Gardens, Kew, Part 1, p.191-204.
- REDDEN, K.M., HERENDEEN, P.S., WURDACK, K.J. & BRUNEAU, A. 2010. Phylogenetic relationship of the Northeastern South American *Brownea* Clade of tribe Detarieae (Leguminosae: Caesalpinioideae) based on morphology and molecular data. *Systematic Botany* 35: 524-533.
- ROSHCHINA, V.V., ROSCHINA, V.D. 1993. The excretory function of higher plants. Berlin: Springer-Verlag.
- SCHRIRE, B.D. 2005. Tribe Phaseoleae. In G. Lewis, B.D. Schrire, B. Mackinder & M. Lock (eds.) *Legumes of the world*. Royal Botanic Gardens, Kew. p. 393-431.
- SOH, W. & PARNELL, J. 2011. Comparative leaf anatomy and phylogeny of *Syzygium* Gaertn. *Plant Systematics and Evolution*. 297: 1.

SOLEREDER, H. 1908. Systematic anatomy of the dicotyledons. Vol I Introduction, Polypetalae, Gamopetalae. Oxford at the Carendon press.

TRESMONDI, F., CANAVEZE, Y., GUIMARÃES, E., MACHADO, S.R. 2017. Colleters in Rubiaceae from forest and savanna: the link between secretion and environment. *Sci Nat* 104:17. DOI 10.1007/s00114017-1444-x.

VARGAS, W. DE, MACHADO, S.R., LEWIS, G.P., CÂNDIDO, E.S., VATANPARAST, M. & FORTUNA-PEREZ, A.P. 2018a. Revisiting of leaflet secretory structures in subtribe Cajaninae Benth. (Leguminosae, Phaseoleae). *International Journal of Plant Sciences*. DOI: 10.1086/699288

VARGAS, W. DE, FORTUNA-PEREZ, A.P., LEWIS, G.P., PIVA, T.C., VATANPARAST, M. & MACHADO, S.R. 2018b. Ultrastructure and secretion of glandular trichomes in species of subtribe Cajaninae Benth (Leguminosae, Phaseoleae). *Protoplasma*. <https://doi.org/10.1007/s00709-018-1307-0>

WOJCIECHOWSKI, M.F. 2003. Reconstructing the phylogeny of legumes (Leguminosae): an early 21st century perspective. In B. B. Klitgaard & A. Bruneau (eds.). *Advances in legume systematics: Higher Level Systematics, Part 10*. The Royal Botanic Gardens, Kew. p. 5-35.

WOJCIECHOWSKI, M.F., LAVIN, M. & SANDERSON, M.J. 2004. A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid *matK* gene resolves many well-supported subclades within the family. *American Journal of Botany* 91(11): 1846-1862.

Considerações finais

Esta tese incluiu um completo levantamento das estruturas secretoras ocorrentes na subtribo Cajaninae, investigação sobre os tipos de material secretados por estas glândulas e sua ultraestrutura, e uma abrangente filogenia, bem como uma reconstrução da evolução das glândulas amplamente distribuídas neste grupo. É importante salientar que todos estes objetivos foram cumpridos com cobertura amostral significativa.

As estruturas secretoras de Cajaninae estão distribuídas de modo geral em quase todos os representantes desse grupo, sendo elas: glândula vesicular, tricoma de base bulbosa, tricoma capitado, tricoma de base secretora e idioblastos secretores. Os dois primeiros tipos de glândulas já haviam sido anteriormente mencionados em trabalhos de sistemática sobre a subtribo e desde o seu descobrimento, no século 19, foram incluídas como uma das características mais importantes para o reconhecimento e sustentação de Cajaninae.

Nosso trabalho pode contribuir significativamente com a ciência, pois além de revisitar estas glândulas que já haviam sido descritas para o grupo, com nossos dados podemos discutir o tipo de composto secretado por elas, as estruturas subcelulares envolvidas no processo de secreção e principalmente a função e importância que elas desempenham para o grupo, que se diversificou em ambientes com muita exposição luminosa e raios UV, como as savanas e cerrados.

Com a conclusão deste trabalho podemos afirmar que Cajaninae, bem como *Adenodolichos*, *Flemingia*, *Dunbaria*, *Cajanus* e *Eriosema* são grupos monofiléticos, sendo este último o gênero com a mais recente diversificação dentro da subtribo, necessitando de mais estudos filogenéticos com diferentes marcadores para obter melhor

compreensão do relacionamento dos seus táxons. Além disso, *Chrysofcias*, *Bolusafrá*, *Paracalyx* e *Rhynchosia* são grupos não monofiléticos, levantando a necessidade de mais estudos sistemáticos com estes táxons, e também em relação aos aspectos nomenclaturais dos mesmos. Estudos de datação molecular e história biogeográfica da subtribo estão sendo desenvolvidos para melhor compreensão da sistemática do grupo.