

Universidade Estadual Paulista
Instituto de Química de Araraquara
Programa de Pós-graduação em Biotecnologia

LAÍS SIMÕES SAMPAIO

**APLICAÇÃO DE *DNA BARCODING* NA IDENTIFICAÇÃO
DE ESPÉCIES DOS GÊNEROS *Senna*, *Lantana* E
Casearia.**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO
ARARAQUARA
2015

LAÍS SIMÕES SAMPAIO

Aplicação de *DNA Barcoding* na identificação de espécies dos gêneros *Senna*, *Lantana* e *Casearia*.

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Regina Maria Barretto Cicarelli

Araraquara
2015

Dedicalória

Dedico este trabalho aos meus pais Eduardo e Isabel, e ao meu irmão Daniel, que sempre me apoiaram na minha jornada.

Amo vocês.

“A persistência é o menor caminho do êxito”.

Charles Chaplin

Agradecimentos

Gostaria de agradecer a minha orientadora professora Dra. Regina Maria Barretto Cicarelli pela oportunidade e confiança.

Aos amigos de laboratório Bianca Januário, Flávia Alves, Andrea Kohatsu, Juliana Martinez, Danilo Braganholi, Fernanda Polverari, Isabela Brunelli, Ana Valéria Freitas pelos ensinamentos e pela ajuda.

Ao Instituto de Química de Araraquara - UNESP pela oportunidade de realizar este trabalho, e ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudo.

Ao Dr. Nelson Wulff, Msc. Elaine Martins e Daniela Coletti pelos ensinamentos que me passaram e a ajuda quando necessitei.

Ao professor Dr. Alberto José Cavalheiro e a Msc. Paula Carolina Pires Bueno pela parceria e pela ajuda durante esses dois anos.

À professora Dra. Rejane Maria Tommasini Grotto, Msc. Viviam Milanez Massolini e Aline Faria Galvani da UNESP Botucatu pelo uso do analisador genético ABI 3500 para eletroforese capilar.

Aos meus professores, principalmente a professora Dra. Márcia Aparecida Silva Graminha, que passaram seus conhecimentos para minha formação e pela ajuda sempre que necessitada.

Às amigas Kely Imamura e Paula Daltro, pela amizade, pelas risadas e pela ajuda.

Ao Thiago Candido por me ajudar na finalização deste trabalho e pela paciência!!!

Aos meus avós, por terem criado as duas pessoas mais maravilhosas do mundo. E a minha família, meus tios e primos!!!

Agradeço ao meu irmão Daniel, que além de irmão, é meu companheiro e meu amigo, e sempre esteve ao meu lado.

Aos meus cachorros, Pingo e Spike, por sempre me ouvirem nas horas de estresse e nunca me julgarem.

A Deus, pela saúde que tenho.

A todos que me ajudaram durante toda minha vida.

E por último, e não menos importante, gostaria de agradecer aos meus pais, Eduardo e Isabel, pela dedicação, paciência, amor, ensinamentos e tudo o que eles me propiciaram, e acima de tudo por acreditarem no meu potencial. Amo muito vocês, e obrigada por tudo!!!

RESUMO

O Brasil possui uma grande diversidade botânica, graças a seus diversos biomas, sendo a documentação das espécies existentes muito importante para o conhecimento da biodiversidade mundial. O gênero *Senna* possui 80 espécies enquanto o gênero *Casearia* apresenta 37 espécies no Brasil. O gênero *Lantana* possui cerca de 150 espécies. Alguns princípios ativos dessas espécies foram testados previamente no laboratório da Orientadora, apresentando atividade tripanocida promissora; entretanto existem dificuldades na classificação de alguns espécimes desses gêneros. Novas técnicas de identificação surgem para auxiliar na taxonomia. *DNA Barcoding* é uma técnica muito útil, pois é rápida, precisa, e com alta relação custo-benefício, utilizando uma pequena sequência de DNA para identificação. Suas aplicações vão desde identificar espécies crípticas até na luta contra o comércio ilegal de espécies ameaçadas de extinção e madeira extraída ilegalmente, dentre outras. Para realização desta técnica em plantas, utilizam-se genes localizados no cloroplasto – *matK* (codifica a proteína maturase K), *rbcL* (codifica a proteína ribulose 1,5-bifosfato ou Rubisco) e/ou regiões de espaçador intergênicos presente no cloroplasto (*trbH-psbA*). Neste trabalho em parceria com o NuBBE – Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais, visamos identificar as espécies pela técnica de *DNA Barcoding*, utilizando as regiões *rbcL*, *trbH-psbA* e *ITS2*, para verificar a acurácia de banco de dados e melhorar a classificação taxonômica. Os resultados mostraram que a região *rbcL* é uma boa região para amplificação e sequenciamento, com boa taxa de discriminação de espécie. A região *psbA-trnH* é menos efetiva na discriminação de espécie comparada à região *rbcL*. A região *ITS2* apresentou identidade com sequência de fungos, mostrando dificuldade na utilização desta região.

ABSTRACT

Brazil has a great botanical diversity, thanks to its various biomes, and the documentation of existing species is very important for understanding the world's biodiversity. *Senna* genus has 80 species while *Casearia* genus has 37 species in Brazil. The *Lantana* genus has about 150 species. Some active compounds of these species were tested in the laboratory presenting promising trypanocidal activity; however there are difficulties in classification of some specimens of these genres. New identification techniques emerge to assist in taxonomy. DNA barcoding is a very useful technique because it is fast, accurate, and highly cost-effective, using a small DNA sequence for identification. Its applications range from identifying cryptic species to the fight against illegal trade in endangered species and illegally harvested timber, among others. To perform this technique, in plants, use genes located in the chloroplast - *matK* (encoding the protein maturase K) *rbcL* (encoding ribulose 1,5-bisphosphate or protein Rubisco) and/or intergenic spacer regions in the chloroplast (*trbH-psbA*). In this work in partnership with NuBBE - Center for Bioassays, Biosynthesis and Ecophysiology of Natural Products, we aimed to identify the species by *DNA barcoding* technique, using the regions *rbcL*, *trbH-psbA* and *ITS2*, to check the database accuracy and improve the taxonomic classification. The results showed that the *rbcL* region is a good region for amplification and sequencing, with good species discrimination rate. The *psbA-trnH* region is less effective in discrimination compared to the *rbcL* region. The *ITS2* region showed identity with fungal sequence, showing difficulty in using this region.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Ilustração de uma mitocôndria.	18
Figura 2: Ilustração de um cloroplasto.	19
Figura 3: Os três genomas onde estão presentes as regiões utilizadas como DNA Barcode de plantas. Marcadores verdes são potenciais <i>Barcode</i> ; marcadores vermelhos são pobres candidatos e os marcadores amarelos estão pendentes para serem investigados.	20
Figura 4: Parte de um ramo com as folhas da espécie <i>Senna alata</i>	23
Figura 5: Arbusto da espécie <i>Lantana câmara</i> L.	24
Figura 6: Folha da espécie <i>Casearia sylvestris</i>	21
Figura 7: Eletroforese em gel de agarose do teste de temperatura da região <i>psbA-trnH</i> (300 a 500 pb) (pente 1) e <i>ITS2</i> (300 a 400 pb) (pente 2).	42
Figura 8: Eletroforese em gel de agarose do teste de concentrações.	43
Figura 9: Eletroforese em gel de agarose da amplificação da região <i>rbcL</i>	44
Figura 10: Eletroforese em gel de agarose da amplificação da região <i>psbA-trnH</i>	44
Figura 11: Eletroforese em gel de agarose da amplificação da região <i>ITS2</i>	45
Figura 12: Árvore filogenética construída a partir do marcador <i>rbcL</i> com o gênero <i>Casearia</i> . O grupo externo* é a espécie <i>Bryum argenteum</i> Hedw.	54
Figura 13: Árvore filogenética construída a partir do marcador <i>psbA-trnH</i> com o gênero <i>Casearia</i> . O grupo externo* é a espécie <i>Bryum argenteum</i> Hedw.	55
Figura 14: Árvore filogenética construída a partir do marcador <i>ITS2</i> com o gênero <i>Casearia</i> . O grupo externo* é a espécie <i>Bryum argenteum</i> Hedw.	56
Figura 15: Árvore filogenética construída a partir do marcador <i>rbcL</i> com os gêneros <i>Senna</i> e <i>Lantana</i> . O grupo externo* é a espécie <i>Bryum argenteum</i> Hedw.	57
Figura 16: Árvore filogenética construída a partir do marcador <i>psbA-trnH</i> com os gêneros <i>Senna</i> e <i>Lantana</i> . O grupo externo* é a espécie <i>Bryum argenteum</i> Hedw.	57
Figura 17: Árvore filogenética construída a partir do marcador <i>ITS2</i> com os gêneros <i>Senna</i> e <i>Lantana</i> . O grupo externo* é a espécie <i>Bryum argenteum</i> Hedw.	58

Figura 18: Árvore filogenética construída a partir do marcador *rbcL* com os gêneros *Matayba*, *Guazuma* e *Ephedranthus*. O grupo externo* é a espécie *Bryum argenteum* Hedw.....58

Figura 19: Árvore filogenética construída a partir do marcador *psbA-trnH* com os gêneros *Matayba*, *Guazuma* e *Ephedranthus*. O grupo externo* é a espécie *Bryum argenteum* Hedw.....59

Obs.: As figuras de 8 a 19 são de autoria da candidata e elaboradas ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Localidade das coletas, identificação morfo-anatômica e perfil químico das amostras.....	29
Tabela 2: Lista de <i>primers</i> utilizados no trabalho.....	34
Tabela 3: Número de acesso das sequências de DNA obtidas no <i>GenBank</i> (NCBI).	38
Tabela 4: Resultado da quantificação de DNA.....	39
Tabela 5: Tamanho das sequências consenso obtidas.....	45
Tabela 6: Resultados obtidos no <i>BLAST</i> para região <i>rbcL</i> (03 de junho 2015)....	47
Tabela 7: Resultados obtidos no <i>BLAST</i> para região <i>psbA-trnH</i> (03 de junho 2015).	48
Tabela 8: Resultados obtidos no <i>BLAST</i> para região <i>ITS2</i> (03 de junho 2015)....	50
Tabela 9: Comparação dos resultados entre banco de dados para região <i>rbcL</i>	51
Tabela 10: Comparação dos resultados entre banco de dados para região <i>ITS2</i>	52
Tabela 11: Resumo dos resultados encontrados no <i>BLAST</i> com a classificação de família.....	60

Obs: As tabelas de 1 a 11 são de autoria da candidata e elaboradas ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Lista de Abreviaturas

A	Base nitrogenada adenina
ATP	Trifosfato de Adenosina
C	Base nitrogenada citosina
CTAB	Brometo de cetiltrimetilamônio
DNA	Ácido desoxirribonucleico
dNTP	Desoxirribonucleotídeo trifosfatado
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
G	Base nitrogenada guanina
g	Gravidade
Kb	Kilobase
MgCl ₂	Cloreto de Magnésio
NCBI	<i>National Center for Biotechnology Information</i>
NuBBE	Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais
pb	Pares de Base
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
qsp.	Quantidade suficiente para
T	Base nitrogenada timina

Lista de Símbolos

%	Porcentagem
°C	Grau Celsius
cm	Centímetro
mL	Mililitro
μL	Microlitro
mM	Milimolar
M	Molar
ng	Nanograma
pH	Potencial hidrogeniônico
U	Unidade
x	Vezez

SUMÁRIO

1. Introdução	16
2. Revisão de Literatura	18
2.2 Genoma Vegetal	18
2.2.1 Mitocôndria	18
2.2.2 Plasto	19
2.3 <i>DNA Barcoding</i>	20
2.3.1 Região <i>rbcL</i>	22
2.3.2 Região <i>ITS2</i>	22
2.3.3 Região <i>psbA-trnH</i>	22
2.4 Gêneros estudados	23
2.4.1 Gênero <i>Senna</i>	23
2.4.2 Gênero <i>Lantana</i>	25
2.4.3 Gênero <i>Casearia</i>	25
2.8 Sistemática Filogenética	26
3. Objetivos	28
4. Material e Métodos	29
4.1 Obtenção das amostras	29
4.2 Extração de DNA	33
4.3 Teste de temperatura de anelamento	34
4.4 Teste de concentração do DNA na PCR	34
4.5 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	35
4.6 Eletroforese em gel de agarose	36
4.7 Purificação	36
4.8 Reação de Sequenciamento	36
4.9 Purificação e Precipitação	37
4.10 Eletroforese Capilar	37
4.11 Análise das Sequências	38
4.12 Sistemática Filogenética	38
5. Resultados	40
5.1 Extração de DNA	40

5.1 Teste de Temperatura de Anelamento.....	42
5.2 Teste de Concentração de DNA	43
5.3 Amplificação por PCR e Sequenciamento	44
5.3.1 Comparação com sequências de Banco de Dados	52
5.4 Sistemática Filogenética	54
5.5 Análises dos resultados obtidos.....	60
6. Discussão.....	63
7. Conclusão	66
Referências	67
Apêndice A.....	71
Apêndice B.....	81
Apêndice C.....	87
Apêndice D.....	91
Apêndice E.....	96
Apêndice F	99
Apêndice G.....	101
Apêndice H.....	109

Introdução

1. Introdução

Flora é o conjunto de espécies vegetais que compõe a cobertura vegetal de uma determinada área. A flora mundial é um recurso de enorme valor para os organismos vivos que podem fazer seu uso de diversas maneiras como na alimentação, medicina, vestuário, habitação e atividade industrial. Uma das principais atividades econômicas no Brasil é o extrativismo vegetal (PORTAL BRASIL, b). Atualmente, o Brasil é o grande exportador de produtos florestais. Além da extração de madeira, a Região Amazônica também é responsável pela produção nacional de castanha do Pará, látex (retirado da seringueira), babaçu entre outras sementes e frutas tipicamente brasileiras, manufaturadas pelas indústrias alimentícia, farmacêutica e até de combustíveis. Essas atividades garantem a subsistência de famílias e movimentação dos mercados locais (PORTAL BRASIL, a).

O Brasil é um país de proporções continentais, com um território de 8,5 milhões de km² que abriga 22% da diversidade de plantas do mundo (PEIXOTO; MORIM, 2003). Abrangendo várias zonas climáticas, desde o semiárido no Nordeste a áreas temperadas no Sul, contêm diversos biomas ou zonas biogeográficas distintas e que refletem em uma enorme biodiversidade. Os biomas brasileiros são: Floresta Amazônica, Pantanal, Cerrado, Caatinga, Pampas, e Mata Atlântica. Assim, a flora brasileira abriga 45.835 espécies descritas, sendo 4.680 algas, 32.715 angiospermas, 1.519 de briófitas, 5.652 fungos, 30 gimnospermas e 1.239 samambaias e Licófitas (SiBBR). Muitas dessas espécies são endêmicas, e diversas têm importância econômica mundial, como o abacaxi, o amendoim, a castanha do Brasil (ou do Pará), a mandioca, o caju e a carnaúba (BRASIL, 2013).

Com tamanha diversidade, tem-se a necessidade de identificação das espécies. Segundo Hebert et al. (2003) a única perspectiva para a capacidade de

identificação sustentável reside na construção de sistemas que empregam sequências de DNA como "códigos de barras" para os táxons, surgindo assim a técnica de *DNA Barcode*.

DNA Barcode é uma técnica para identificação de espécies rápida, precisa e automatizada que utiliza regiões curtas e padronizadas de genes do organismo estudado. Para animais utiliza-se a subunidade 1 da Citocromo c Oxidase (*COI*) presente no DNA mitocondrial, para fungos, a região *ITS* presente no DNA nuclear, e para plantas ainda não se tem uma região padrão para identificação (HEBERT; GREGORY, 2005).

Revisão de Literatura

2. Revisão de Literatura

2.2 Genoma Vegetal

As espécies vegetais possuem além do genoma nuclear, o genoma mitocondrial e o genoma cloroplastidial (KLABUNDE, 2012).

2.2.1 Mitocôndria

As mitocôndrias são organelas arredondadas ou alongadas, presentes no citoplasma da maioria das células eucarióticas. São constituídas por duas membranas: membrana externa, que é lisa e muito permeável; e membrana interna, que é seletiva e controla o trânsito de moléculas nos dois sentidos. Esta membrana apresenta muitas pregas, denominadas cristas mitocondriais, que aumentam a área para o sistema transportador de elétrons. O espaço entre a membrana interna e a externa é chamado de espaço intermembranoso. O interior da organela, limitado pela membrana interna, contém a matriz mitocondrial (Figura 1).

As mitocôndrias contêm ribossomos 70S e DNA próprio, bem como uma maquinaria para replicar, transcrever e traduzir a informação codificada pelo seu DNA (TORTORA; FUNKE; CASE, 2010).

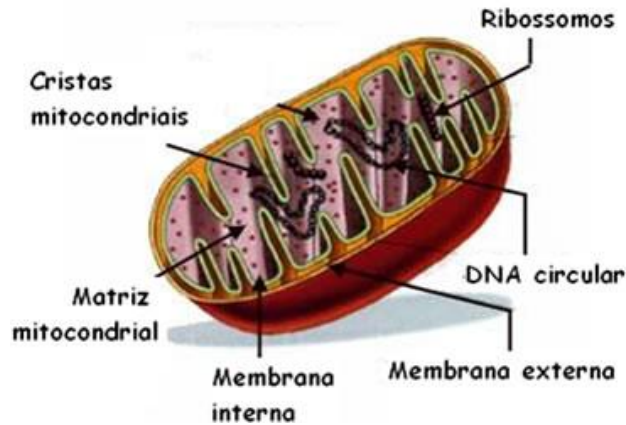


Figura 1: Ilustração de uma mitocôndria. Fonte: www.alunosonline.com.br.

A subunidade 1 da Citocromo c Oxidase (COI) do DNA mitocondrial é parte de um complexo gênico codificante de proteínas transmembrana, envolvidas no transporte elétrico e catálise na cadeia respiratória de organismos eucariotos. Este gene vem sendo alvo de estudos populacionais de variabilidade genética pela sua universalidade e importância evolutiva em animais (MORAIS; MARRELLI, 2009).

2.2.2 Plasto

Algas e plantas possuem uma organela exclusiva denominada cloroplasto, uma estrutura revestida por membrana que contém o pigmento clorofila e as enzimas necessárias para as fases de captação de luz da fotossíntese. A clorofila está contida em sacos achatados de membranas denominados tilacóides. As pilhas de tilacóides são denominadas *grana* (singular: *granum*) (Figura 2).

Assim como as mitocôndrias, os cloroplastos contêm ribossomos 70S, DNA e enzimas envolvidas na síntese proteica (TORTORA; FUNKE; CASE, 2010).

O genoma cloroplastidial é constituído por 120-180 Kilobases (Kb) na maioria das plantas superiores, observando-se um conteúdo genético extremamente conservado mesmo entre espécies filogeneticamente distantes.

As regiões *rbcl*, *psbA-trnH* e *matK* estão presentes no genoma cloroplastidial das plantas.

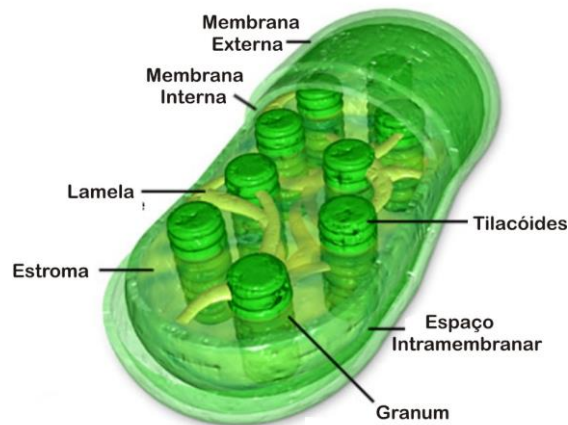


Figura 2: Ilustração de um cloroplasto. Fonte: www.sobiologia.com.br

2.3 DNA Barcoding

Em 2003, Paul Hebert propôs “*DNA Barcoding*” como um método de identificar espécies utilizando uma pequena sequência genética de uma parte do genoma (CONSORTIUM FOR THE BARCODE OF LIFE).

O objetivo do *DNA Barcoding* é ser preciso, rápido, com alta relação custo-benefício e acesso a base de dados para identificação de espécies (JOLY et al., 2009).

DNA Barcoding pode ser utilizado para várias aplicações, tais como identificar espécies crípticas, fragmentos de espécies, como raízes de árvores; detecção de espécies invasoras no ecossistema; descoberta de espécies; revisão taxonômica; desvendar teias alimentares e relações presa-predador; e na luta contra o comércio ilegal de espécies ameaçadas de extinção e madeira extraída ilegalmente (COSTION et al, 2011).

Como padrão para maioria dos grupos animais, utiliza-se uma região de 649 pares de bases presente no DNA mitocondrial, a subunidade 1 do gene citocromo

c oxidase – “*COI*”. Porém *COI* não é uma região eficiente para plantas, pois possui uma baixa taxa de diversidade, então utiliza-se genes localizados em outras partes do genoma como no cloroplasto – *matK* (codifica a proteína maturase K) e *rbcL* (codifica a proteína ribulose 1,5-bifosfato ou Rubisco) (HOLLINGSWORTH et al., 2009). Atualmente, utiliza-se mais de um gene, sendo um conservado (*rbcL*) e os outros de rápida evolução (parte do gene *matK* e o espaçador intergênico *psbA-trnH*) (Figura 3) (KRESS et al, 2009).

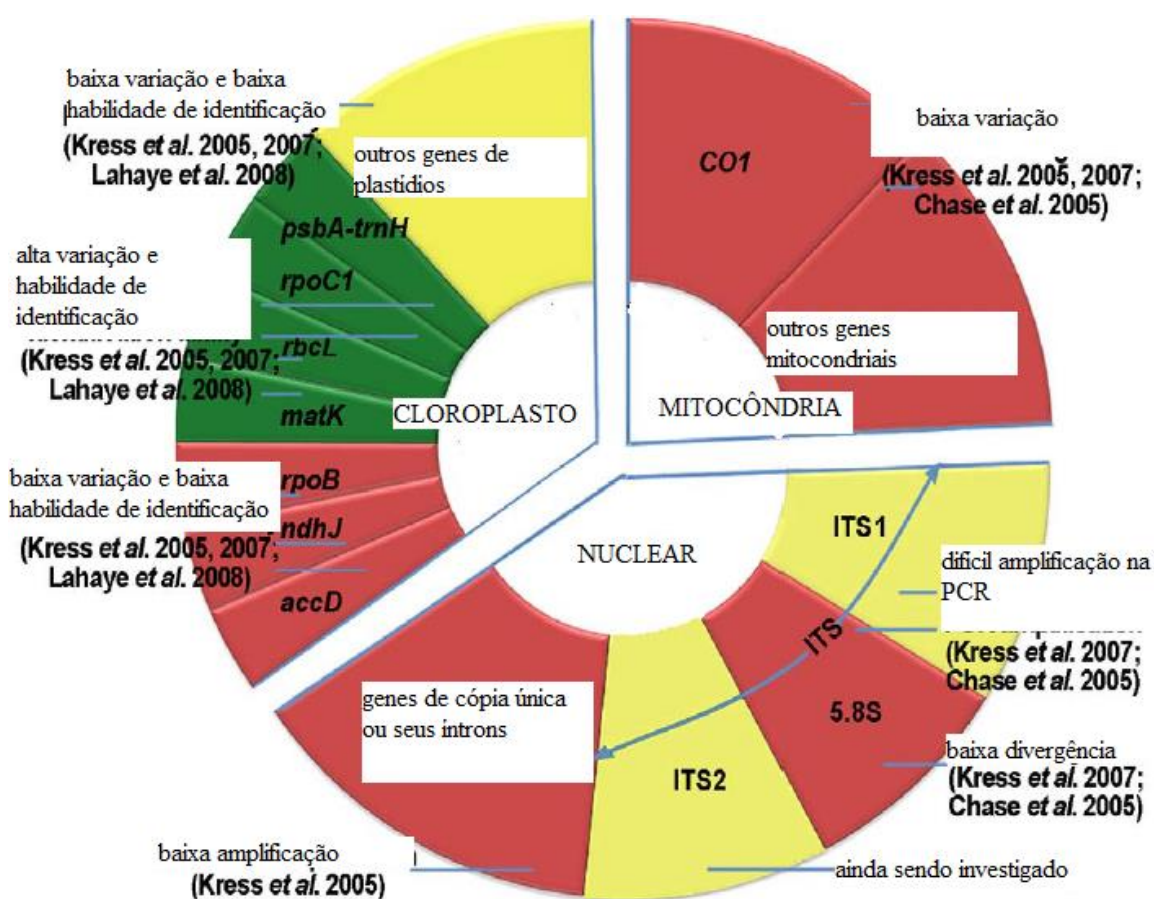


Figura 3: Os três genomas onde estão presentes as regiões utilizadas como *DNA Barcode* de plantas. Marcadores verdes são potenciais *Barcode*; marcadores vermelhos são pobres candidatos e os marcadores amarelos estão pendentes para serem investigados. Fonte: modificado de Chen et al, 2010.

2.3.1 Região *rbcL*

A região do gene *rbcL* (*rbclaf* - *rbclajf634r*) codifica uma proteína altamente conservada, ribulose-1, 5-bisfosfato ou Rubisco (FORD et al, 2009). Sua escolha como *DNA Barcode* foi adotado por ser um gene comum entre as plantas e seu uso histórico em estudos filogenéticos.

2.3.2 Região *ITS2*

ITS2 (espaçador interno transcrito) é uma região ribossomal nuclear tem provado ser uma região com boas características para estudos filogenéticos em muitas famílias de angiospermas (BALDWIN et al, 1995).

O DNA ribossomal (DNAr) é composto por longos arranjos de unidades de repetição em *tandem*, separadas por um espaçador intergênico não transcrito (IGS ou NTS), o qual possui número variável de pequenas subrepetições internas e que são variáveis em comprimento entre espécies intimamente relacionadas e indivíduos da mesma espécie, e um espaçador externo transcrito (ETS). Cada unidade transcrita contém as sequências que codificam para três genes ribossômicos, 18S, 5.8S e 28S, que são altamente conservadas e essencialmente invariáveis. Localizado entre os genes 18S e 5.8S encontra-se o primeiro espaçador interno transcrito (*ITS1*) e, entre os genes 5.8S e 28S o segundo (*ITS2*) (SABATINI, 2003).

2.3.3 Região *psbA-trnH*

A região *psbA-trnH* (espaçador intergênico não transcrito) é facilmente amplificada e sequenciada, mostra alta variação de nucleotídeos na maioria das espécies de angiospermas e gimnospermas (KRESS et al., 2005).

2.4 Gêneros estudados

O NuBBE – Núcleo de Bioensaios, Biossíntese e Ecofisiologia de Produtos Naturais estabelecido no Instituto de Química da UNESP participa do programa BIOTA – FAPESP, realizando principalmente estudos de bioprospecção, na área de Química de Produtos Naturais presentes na flora do Cerrado e Mata Atlântica.

A união entre os laboratórios da UNESP (IQ - NuBBE, FCF, FC), Instituto de Botânica – SMA/SP, UFMG (DATAPLAMT), UFC (LOE, LPN e CENAUREMN) e UFPI (Laboratórios de Produtos Naturais e de Farmacologia, BIOTEN) tem como objetivo a documentação de acessos a espécies vegetais da flora brasileira, com foco nos biomas Cerrado e Mata Atlântica, incluindo localização dos indivíduos e identificação a partir de dados morfo-anatômicos e genéticos (*DNA Barcoding*).

Os projetos desenvolvidos são para o estudo químico de espécies vegetais e micro-organismos associados, com ênfase na busca de novas substâncias antimicrobianas, antitumorais, anti-inflamatórias e antioxidantes e estudos metabolômicos que incluem dinâmica metabólica, variabilidade intraespecífica e biossíntese de metabólitos secundários. Estes estudos visam a descoberta de novas moléculas bioativas com potencial terapêutico e a identificação de papéis ecofisiológicos dessas moléculas, com o objetivo maior de gerar informações que permitam a utilização e desenvolvimento sustentável do Cerrado e Mata Atlântica (NÚCLEO DE BIOENSAIOS, BIOSÍNTESE E ECOFISIOLOGIA DE PRODUTOS NATURAIS).

Em parceria com o NuBBE, os gêneros escolhidos para realização deste trabalho foram os gêneros *Senna*, *Lantana* e *Casearia*, com foco no último gênero, onde em trabalhos realizados no NuBBE foi avaliado o perfil químico das amostras.

2.4.1 Gênero *Senna*

O gênero *Senna*, pertencente à família Leguminosae, sub-família Caesalpinioideae, da tribo Cassieae, subtribo Cassiinae, possui aproximadamente

300 espécies de distribuição pantropical, sendo 200 presentes nas Américas e 80 no Brasil, no Bioma Cerrado (Figura 4) (DANTAS, DA SILVA, 2013).

Espécies deste gênero são utilizadas medicinalmente desde longa data por tribos americanas, indianas e africanas como tônico, febrífugo, estomáquico e purgativo. Além disso, apresenta indicações como antimalárica em regiões da Amazônia e da África. Na medicina indiana é considerada uma importante droga para o tratamento de problemas hepáticos e infecções da pele.

Estudos científicos comprovam que espécies do gênero *Senna* podem atuar como agente antimicrobiano, antiparasitário, inseticida, antitumoral, hepatoprotetor e laxativo. Trabalhos mostram também que ela apresenta propriedades tóxicas para animais, sendo assim, de grande interesse à Medicina Veterinária (LOMBARDO; KIYOTA; KANEKO, 2009).



Figura 4: Parte de um ramo com as folhas da espécie *Senna alata*. Fonte: <http://www.boldsystems.org/>

2.4.2 Gênero *Lantana*

O gênero *Lantana*, pertencente à ordem Lamiales, família Verbenaceae, possui cerca de 150 espécies com ocorrência nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Figura 5).

Na literatura, referem-se a *Lantana* como sendo uma planta tóxica para animais, mas é frequentemente utilizada na medicina popular como anti-séptico, antiespasmódico, contra hemorragias, gripes e resfriados e inibição diarréica. São reconhecidos também propriedades alelopáticas, que é o efeito inibitório ou benéfico, de uma planta sobre outra, via produção de compostos químicos que são liberados no ambiente; e efeitos repelentes contra larvas de mosquitos *Aedes* (COSTA et al., 2009).



Figura 5: Arbusto da espécie *Lantana câmara* L. Fonte: <http://herbarivirtual.uib.es/>.

2.4.3 Gênero *Casearia*

O gênero *Casearia*, pertencente a ordem Violales, tradicionalmente pertencente à família Flacourtiaceae, foi recentemente sugerido encaixar-se na

família Salicaceae (CAVALLARI et al., 2008); possui 160 espécies, sendo 70 pertencentes ao continente americano e 37 ao Brasil, no Bioma Cerrado (Figura 6) (TININIS et al., 2006).

Segundo Sleumer (1980), a espécie *Casearia sylvestris* possui duas variedades, *Casearia sylvestris* var *sylvestris*, encontrada em florestas úmidas e densas, e *Casearia sylvestris* var *língua*, restrita a ambientes abertos e secos (SLEUMER, 1980).

A espécie *Casearia sylvestris* Swartz é conhecida no Brasil por diversos nomes populares, tais como guaçatonga, cafeeiro-do-mato, erva-de-lagarto e erva-de-bugre. A espécie é popularmente utilizada na fitoterapia brasileira pelas propriedades antiofídicas, antiinflamatórias, cicatrizantes, antivirais e antirreumáticas. Nos últimos anos, a *Casearia sylvestris* tem sido citada como espécie interessante do ponto de vista farmacológico pela atividade antitumoral e antiulcerogênica (SPANDRE et al., 2012).



Figura 6: Folha da espécie *Casearia sylvestris*. Fonte: <http://www.boldsystems.org/>

2.8 Sistemática Filogenética

O objetivo da Sistemática Filogenética é entender as relações entre as espécies para inferir a história da vida desde sua origem, representando-a numa

estrutura de árvore, chamada Filogenia ou Árvore Filogenética. Diz-se então que a Sistemática infere de forma confiável as relações históricas a partir de similaridades (VIANA, 2007).

Estas árvores podem ser representadas por grafos. Cada nó do grafo representa uma unidade taxonômica. Uma unidade taxonômica é uma unidade do sistema de classificação de espécies, podendo ser a própria espécie, ou outros agrupamentos como gêneros e até mesmo reinos. As arestas representam as relações de herança genética ou parentesco entre as unidades taxonômicas (OLIVEIRA, 2010).

Existem três métodos comumente utilizados em estudos de sistemática filogenética: Cladística, funcionando segundo o princípio da Máxima Parcimônia (MP); *Maximum Likelihood* (ML) e Inferência Bayesiana (IB). Nos últimos anos, vem sendo utilizado o método de *Neighbor-Joining* (NJ), que não é um método filogenético.

Neighbor-Joining é um método muito utilizado em estudos de *DNA Barcode* e seu algoritmo foi criado por Saitou & Nei (1987) que gera uma única "árvore filogenética" final, que, segundo os autores, não necessariamente será a "árvore real". No passo inicial, ligam-se os dois *neighbors* (sequências) que têm a menor distância genética (PENÃ, 2011) .

O método da Máxima Parcimônia é baseado na suposição de que a árvore mais provável é aquela que requer o menor número de mudanças para explicar toda a variação observada na matriz de caracteres (MARTINS, 2007).

Os métodos *Maximum Likelihood* (ML) e Inferência Bayesiana (IB) são baseados em modelos estatísticos de evolução molecular. O método ML estima a probabilidade de quão bem a matriz de caracteres é explicada por árvores filogenéticas, enquanto IB estima a probabilidade de quão bem árvores filogenéticas são explicadas pelos dados (a matriz de caracteres) (PENÃ, 2011).

Objetivos

3. Objetivos

Identificar espécies dos gêneros *Senna*, *Lantana* e *Casearia*, presentes na flora brasileira, pela técnica de *DNA Barcoding* para verificar a acurácia de banco de dados e melhorar a classificação taxonômica.

Material e Métodos

4. Material e Métodos

4.1 Obtenção das amostras

Folhas das árvores selecionadas foram coletadas e armazenadas em sílica gel até o momento da extração de DNA, sendo quatro amostras do gênero *Senna*, uma do gênero *Lantana* e 31 do gênero *Casearia*.

As amostras foram cedidas pela Profa. Dra. Maria Goretti de Vasconcelos Silva, da Universidade Federal do Ceará e, pelo Prof. Dr. Alberto José Cavaleiro, do Instituto de Química da Unesp de Araraquara/NuBBE.

Todas as equipes que coletaram as amostras deste trabalho possuem autorização pelo órgão gestor e cadastro no Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (Sisbio - IBAMA).

A localidade das coletas, a identificação morfo-anatômica e o perfil químico das amostras está descrita na Tabela 1.

Tabela 1: Localidade das coletas, identificação morfo-anatômica e perfil químico das amostras.

Amostra	Localidade	Identificação	Perfil Químico
<i>Senna IBIAP – 01</i>			
<i>Senna IBIAP – 02</i>			
<i>Senna IBIAP – 03</i>			
<i>Senna IBIAP – 04</i>			
<i>Lippia IBIAP – 01</i>			
AJC CE 002	Município de Pacoti, CE	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>syvestris</i>	
AJC CE 003	Pico Alto, no município de Guaramiranga, CE	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>syvestris</i>	
AJC CE 004	Pico Alto, no município de Guaramiranga, CE	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>lingua</i>	
AJC CE 005	Município de Mulungu, CE	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>syvestris</i>	
AJC CE 006	Guaraciaba do Norte, CE	Família Sapindaceae	
AJC CE 007	Guaraciaba do Norte, CE	<i>Casearia arborea</i> (Rich.) Urb.	
AJC CE 008	Guaraciaba do Norte, CE	<i>Casearia arborea</i> (Rich.) Urb.	
AJC CE 009	Guaraciaba do Norte, CE	<i>C. cf. commersoniana</i> Cambess.	
AJC CE 010	Guaraciaba do Norte, CE	<i>Casearia</i> sp.	
AJC CE 011	Guaraciaba do Norte, CE	<i>Casearia cf. grandiflora</i> Cambess.	
AJC CE 012	Guaraciaba do Norte, CE	<i>Casearia cf. grandiflora</i> Cambess.	
AJC CE 013		Família Annonaceae	
AJC CE 014	Distrito de Inhuçu, CE	Família Sapindaceae	
AJC CE 015	Entre os municípios de Ibiapina e Ubajara, CE	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>syvestris</i>	
AJC CE 016		<i>Guazuma ulmifolia</i> Lam.	
PRE05	Presidente Venceslau/SP	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>syvestris</i> /intermediária	Rica em diterpenos

Amostra	Localidade	Identificação	Perfil Químico
CAM01	Campinas/SP	<i>Casearia sylvestris</i> intermediária	Rica em diterpenos; rica em fenólicos
CAM07	Campinas/SP	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i>	Rica em diterpenos; rica em fenólicos
MOG01	Mogi-Guaçu/SP	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i> /intermediária	Ricas em Diterpenos, Rica em fenólicos
MOG04	Mogi-Guaçu/SP	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i> /intermediária	Rica em fenólicos, presença de diterpenos
LUI01	Luis Antônio/SP	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i>	Rica em fenólicos
LUI05	Luis Antônio/SP	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i>	Rica em fenólicos
LUI06	Luis Antônio/SP	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i>	Rica em fenólicos
ARA09	Araraquara/SP	<i>Casearia sylvestris</i> intermediária	Rica em fenólicos
ARA13	Araraquara/SP	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i>	Rica em fenólicos
ARA14	Araraquara/SP	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i>	Rica em Diterpenos, presença de fenólicos
ANG02	Angatuba/SP	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i> /intermediária	Rica em Diterpenos, presença de fenólicos
CAR01	Cariri/CE	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i>	Rica em fenólicos
CAR05	Cariri/CE	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i>	Rica em fenólicos
CAC01	Cáceres/MT	<i>Casearia sylvestris</i> intermediária	Rica em fenólicos
CAC05	Cáceres/MT	<i>Casearia sylvestris</i> intermediária	Rica em fenólicos
PRE07	Presidente Venceslau/SP	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i> /intermediária	Rica em diterpenos; presença de fenólicos
PRE09	Presidente Venceslau/SP	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i> /intermediária	Rica em diterpenos

Amostra	Localidade	Identificação	Perfil Químico
ANG01	Angatuba/SP	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i> /intermediária	Rica em diterpenos; presença de fenólicos
CAM03	Campinas/SP	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i>	Rica em diterpenos
MOG03	Mogi-Guaçu/SP	<i>Casearia sylvestris</i> intermediária	Rica em diterpenos; presença de fenólicos
FLO01	Florianópolis/SC	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i>	Rica em diterpenos
FLO03	Florianópolis/SC	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i>	Rica em diterpenos; presença de fenólicos
FLO05	Florianópolis/SC	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i>	Rica em diterpenos; presença de fenólicos
CAR03	Cariri/CE	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>língua</i>	Rica em fenólicos
CAC03	Cáceres/MT	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>língua</i>	Rica em fenólicos

Fonte: Próprio autor

A identificação morfo-anatômica foi realizada pela botânica Dra. Roseli Buzanelli Torres do Herbário do Instituto Agronômico de Campinas (IAC).

O perfil químico das amostras foi realizado pelo NuBBE.

4.2 Extração de DNA

O DNA foi extraído pelo protocolo CTAB (MURRAY; THOMPSON, 1980), como descrito a seguir: triturar 0,2 g de material vegetal de folhas secas, e colocar em tubos de microcentrífuga de 2 mL com microesferas de porcelana; adicionar 3 mL de tampão de extração CTAB (CTAB 0,053 M; NaCl 1,4 M; PVP 10000 2%; Tris 0,1 M pH 8,0; e EDTA 0,25 M pH 8,0) contendo beta-mercaptoetanol (0,2%): 20 µL de beta-mercaptoetanol para 10 mL de tampão; a maceração foi realizada no aparelho *Precellys* (*Bertin Technologies*) a 6.500 g e temperatura ambiente para a lise celular e liberação do DNA; transferir o conteúdo macerado para um tubo de microcentrífuga de 2 mL, e deixar 30 minutos em banho-maria a 65° C; centrifugar a 20.000 g por 5 minutos e recuperar 400 µL do sobrenadante. Adicionar (volume/volume) de clorofórmio: isoamil álcool (24:1) (400 µL) e homogeneizar invertendo o tubo; centrifugar a 20.000 g por 5 minutos para separação dos ácidos nucleicos das proteínas, recuperar 300 µL do sobrenadante, adicionar 0,6 do volume de isopropanol (180 µL), e incubar 30 minutos a -4° C, para a precipitação do DNA. Após centrifugação a 20.000 g por 20 minutos, lavar o sedimento duas vezes com 900 µL de etanol 70%. Após o material ser precipitado, secar a vácuo por 6 minutos. Ressuspender a amostra em 50 µL de água ultrapura e incubar a 65° C por 30 minutos para dissolução completa do DNA; armazenar a -20° C até o momento do uso.

O DNA foi quantificado em espectrofotômetro *Epoch* (*Biotek*) e diluído com água ultrapura autoclavada para 5 ng/mL.

4.3 Teste de temperatura de anelamento

Foi realizado um teste para saber qual a temperatura ideal de anelamento na amplificação das regiões *psbA-trnH* e *ITS2*. A região *rbcL* foi padronizada previamente por Januario, 2014, sendo a temperatura utilizada de 55° C.

Foram utilizadas três amostras, uma do gênero *Senna*, uma do gênero *Lantana* e uma do gênero *Casearia*, denominadas S04, L01 e A04, respectivamente.

Para as reações de amplificação foram utilizadas 1U da enzima *Platinum® Taq DNA Polymerase (Invitrogen)*, 10 x *PCR Buffer* (200 mM Tris-HCl (pH 8,4), 500 mM KCl) (*Invitrogen*), 50 mM *MgCl₂* (*Invitrogen*), 10 mM dNTP (dNPT *Mix Fermentas*), *Primer Forward* e *Primer Reverse* a 10 mM, 5 ng de DNA e água ultrapura autoclavada q.s.p. 20 µL.

As temperaturas testadas foram 54° C, 56° C e 58° C.

Os produtos de amplificação da PCR foram separados em eletroforese em gel de agarose 1,0% em tampão TAE 1x (Tris 40 mM, ácido acético 40 mM e EDTA 1 mM), utilizando marcador de massa molecular de 1kb (*Invitrogen*), o gel foi posteriormente corado com brometo de etídio para visualização do DNA amplificado em transiluminador de luz ultravioleta *AlphaImager® HP System (AlphaInnotech)* e obtida a imagem digitalizada do gel.

4.4 Teste de concentração do DNA na PCR

Foi realizado um teste para saber qual a concentração ideal de DNA para utilizar-se na PCR com os primers para as regiões *rbcL*, *psbA-trnH* e *ITS2*.

Foram utilizadas duas amostras do gênero *Casearia* denominadas A13 e A14. O DNA das amostras foi extraído pelo protocolo CTAB, quantificado em espectrofotômetro *Epoch (Biotek)* e diluído com água ultrapura autoclavada para 5 ng/µL.

Para as reações de amplificação foi utilizada a enzima *Platinum® Taq DNA Polymerase* do mesmo modo que para o teste de temperatura citada no item 3.3 e as masas finais de DNA utilizadas no teste foram 2,5 ng, 5 ng e 7,5 ng.

Os produtos de amplificação da PCR foram separados em eletroforese em gel de agarose 1,0% em tampão TAE 1x (Tris 40 mM, ácido acético 40 mM e EDTA 1 mM), utilizando marcador de massa molecular de 1kb (*Invitrogen*), sendo posteriormente corado com brometo de etídio para visualização do DNA amplificado em transiluminador de luz ultravioleta Alphamager® HP System (*AlphaInnotech*) e obtida a imagem digitalizada do gel.

4.5 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

As reações de amplificação foram realizadas em tubos de microcentrífuga de 0,2 mL em termociclador *Veriti* (*Applied Biosystems*) conforme o protocolo da enzima *Platinum® Taq DNA Polymerase*, utilizando os *primers* da Tabela 2.

Tabela 2: Lista de *primers* utilizados no trabalho.

Primers	Sequência 5' – 3'	Referência
<i>psbA_f</i>	GTTATGCATGAACGTAATGCTC	SANG et al., 1997.
<i>trnH_r</i>	CGCGCATGGTGGATTCAACAATCC	SANG et al., 1997.
<i>rbcLa_f</i>	ATGTCACCACAAACAGAGACTAAAGC	FAZEKAS et al., 2008.
<i>rbcLajf634R</i>	GAAACGGTCTCTCCAACGCAT	FAZEKAS et al., 2008.
<i>ITS2_f</i>	CATCGATGAAGAACGCAGC	.ESKINEN; ALSTRÖM-RAPAPORT, 1999.
<i>ITS2_r</i>	TTCCTTCCGCTTATTGATATGC	.ESKINEN; ALSTRÖM-RAPAPORT, 1999.

Fonte: Próprio autor

As ciclagens utilizadas foram as seguintes: para a região *rbcL*, 4 minutos a 95° C para desnaturação, seguido de 35 ciclos a 94° C por 30 segundos, 55° C por 1 minuto e 72° C por 1 minuto, e extensão final a 72° C por 10 minutos; para as regiões *psbA-trnH* e *ITS2*, 5 minutos a 94° C para desnaturação, seguido de 30 ciclos a 94° C por 30 segundos, 56° C por 30 segundos e 72° C por 45 segundos, e extensão final a 72° C por 10 minutos.

4.6 Eletroforese em gel de agarose

Após a ciclagem, o produto de amplificação da PCR foi separado em eletroforese em gel de agarose 1% em tampão TAE 1x (Tris 40 mM, ácido acético 40 mM e EDTA 1 mM), utilizando um marcador de massa molecular de 1kb, sendo posteriormente corado com brometo de etídio para visualização do DNA amplificado em transiluminador de luz ultravioleta Alphamager® HP System (*AlphaInnotech*) e obtida imagem digitalizada do gel para documentação e análise.

4.7 Purificação

Os produtos de amplificação da PCR foram purificados com o *GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit* (*GE Healthcare*), de acordo com instruções do fabricante, posteriormente quantificados em espectrofotômetro *Epoch* (*Biotek*) e o produto purificado foi diluído para 5 ng/μL.

4.8 Reação de Sequenciamento

A reação de sequenciamento foi realizada em ambas as fitas do DNA, *forward* e *reverse*, utilizando os mesmos iniciadores utilizados para amplificação por PCR (Tabela 2) conforme o protocolo do fabricante do *BigDye® Terminator v3.1*, utilizando a massa final de 5 ng do produto da PCR purificado.

A ciclagem utilizada para as três regiões foi a seguinte: um minuto a 96° C para desnaturação, seguido de 30 ciclos a 96° C por 15 segundos, 55° C por 15 segundos, para anelamento do primer, e 60° C por 4 minutos, para extensão.

4.9 Purificação e Precipitação

Os produtos das reações de sequenciamento foram purificados e precipitados com etanol/EDTA, como descrito a seguir:

Após a ciclagem, retirar os tubos do termociclador e centrifugar por 1 minuto. Transferir as amostras para uma placa de 96 poços e adicionar 2,5 µL de EDTA 125 mM e 25 µL de etanol 100%, em cada poço, selar a placa e envolvê-la em papel alumínio; misturar por inversão e incubar a temperatura ambiente e abrigo da luz por 15 minutos. Centrifugar a 2.500 g por 30 minutos a 4° C, imediatamente, destampar a placa e inverter para descartar o sobrenadante; centrifugar a 185 g por 15 segundos, adicionar 100 µL de etanol 70% em cada poço, selar a placa, e centrifugar a 2.500 g por 15 minutos a 4° C; inverter a placa para descartar o sobrenadante e centrifugar por 1 minuto a 185 g; deixar a placa secando no termociclador com a tampa aberta por 2 minutos a 90° C. Ressuspender as amostras na placa utilizando 10 µL de Formamida HI-DI (*Applied Biosystems*), colocar a placa em agitador, durante 1 minuto. Desnaturar as amostras a 95° C em termociclador *Veriti* (*Applied Biosystems*), com a tampa aberta por 3 minutos, e colocá-las no gelo por 3 minutos.

4.10 Eletroforese Capilar

A eletroforese capilar foi realizada no analisador genético *ABI 3500* (*Applied Biosystems*) com o polímero *POP-7* (*Applied Biosystems*) e capilar de 50 cm (*Applied Biosystems*), conforme programa pré-determinado no *ABI 3500*.

4.11 Análise das Sequências

As sequências foram feitas em duplicata, editadas, onde houve a deleção da sequência dos *primers*, e alinhadas no programa *BioEdit* (HALL, 1999) para obtenção da sequência consenso. As matrizes foram conferidas manualmente, com auxílio das ferramentas de bioinformática *BLAST* (*Basic Local Alignment Search Tool*) (ZHANG, 2000; MORGULIS, 2008) e *BOLD Systems* (*The Barcode of Life Data Systems*) (RATNASINGHAM; HEBERT, 2007), onde se encontram regiões de similaridade entre sequências locais, ou seja, sequências depositadas nestes bancos de dados. O programa compara as sequências de nucleotídeos ou sequências de proteínas com aquelas do banco de dados e calcula a significância estatística dos resultados (*NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION*).

4.12 Sistemática Filogenética

Para construção das árvores filogenéticas foi utilizado o método *Neighbor-Joining*, pois é o método mais empregado para estudos de *DNA Barcode* e utilizou-se o programa MEGA6 (TAMURA et al., 2013). O suporte dos ramos resultantes foi obtido por *bootstrap* como método de reamostragem, utilizando 1000 réplicas.

Para as análises filogenéticas e comparação dos gêneros nas árvores de *rbcL*, *psbA-trnH*, e *ITS2* foram inseridas sequências (Tabela 3) obtidas no GenBank das espécies do gênero *Casearia*, *Senna*, *Cassia* e *Lantana*. A amostra denominada como pertencente ao gênero *Lippia*, após a realização das análises de sequenciamento, foi identificada como sendo do gênero *Lantana*, utilizando assim *Lantana* para comparação nestas análises.

E para enraizamento da árvore, um grupo externo foi anexado para indicar que o mesmo está ramificado fora do grupo analisado. A escolha do grupo externo foi uma espécie que tivesse dados para as três regiões estudadas e que fosse distante dos grupos analisados.

Tabela 3: Número de acesso das sequências de DNA obtidas no *GenBank* (NCBI).

	<i>rbcL</i>	<i>psbA</i>	<i>ITS2</i>
<i>Casearia barteri</i>	GI:480308538	GI:480310915	
<i>C. sylvestris</i>	GI:384596782	GI:313502339	
<i>C. praecox</i>	GI:384595510	GI:764013426	
<i>C. arborea</i>	GI:384595478	GI:313502335	
<i>C. javitensis</i>	GI:224382739	GI:441523765	
<i>C. velutina</i>	GI:756775987	GI:756777916	GI:756773334
<i>C. glomerata</i>			GI:756778284
<i>Senna occidentalis</i>	GI:818946237	GI:312603436	GI:670735818
<i>S. tora</i>	GI:670736082	GI:670735996	GI:670735824
<i>S. alata</i>	GI:2343005	GI:670735978	GI:670735812
<i>S. obtusifolia</i>	GI:818946235	GI:312603488	GI:267822408
<i>S. auriculata</i>	GI:670736068	GI:670735984	GI:670735815
<i>Cassia grandis</i>	GI:384590818	GI:764006902	GI:222354702
<i>Lantana camara</i>	GI:270155965	GI:559072823	GI:33320127
<i>Matayba guianensis</i>	GI:594551157		
<i>Guazuma ulmifolia</i>	GI:384595966	GI:313502417	
<i>Ephedranthus parviflorus</i>	GI:57338617	GI:56786873	
<i>Rhysotoechia bifoliolata</i>		GI:763902510	
<i>Bryum argenteum</i>*	GI:24021822	GI:27228014	GI:48857086

*grupo externo

Fonte: Próprio autor

Resultados

5. Resultados

5.1 Extração de DNA

A extração de DNA foi realizada com as folhas dessecadas das plantas selecionadas, utilizando o protocolo CTAB de Murray; Thompson (1980). Foram extraídos DNA de 46 amostras.

A concentração do DNA extraído e a relação 260/280 estão presentes na Tabela 4.

A relação 260/280 indica a pureza do DNA. Uma amostra de DNA é considerada pura quando apresenta esta razão entre 1,8 e 2,0. Se a razão for menor que estes valores possivelmente há contaminação com proteínas, fenol ou outros contaminantes que absorvem fortemente em 280 nm (PALMA et al., 2007).

Tabela 4: Resultado da quantificação de DNA.

Amostra	Concentração (ng/ μ L)	Relação 260/280
<i>Senna</i> IBIAP - 01	30,08	1,39
<i>Senna</i> IBIAP - 02	25,45	1,37
<i>Senna</i> IBIAP - 03	114,17	2
<i>Senna</i> IBIAP - 04	242,07	2,03
<i>Lippia</i> IBIAP - 01	365,98	1,97
AJC CE 002	796,39	1,92
AJC CE 003	139,32	1,74
AJC CE 004	1.234,98	2,11
AJC CE 005	243,87	2,02
AJC CE 006	186,33	1,9
AJC CE 007	117,92	2,04
AJC CE 008	76,51	2,05
AJC CE 009	126,48	2,04

Amostra	Concentração (ng/μL)	Relação 260/280
AJC CE 010	162,51	2,08
AJC CE 011	85,33	2,03
AJC CE 012	115,22	2,02
AJC CE 013	564,32	2,05
AJC CE 014	235,64	1,89
AJC CE 015	169,01	1,52
AJC CE 016	247,29	1,78
PRE05	300,8	1,76
CAM01	245,58	1,93
CAM07	421	1,89
MOG01	636,09	2,01
MOG03	559	1,94
MOG04	547	1,77
LUI01	30,82	1,68
LUI05	53,89	1,73
LUI06	46,123	1,82
ARA09	142,67	1,85
ARA13	480,68	2,05
ARA14	570,7	1,76
ANG02	235,02	1,95
CAR01	199,21	1,89
CAR05	108,91	2
CAC01	536,94	1,85
CAC05	175,08	1,99
PRE07	449	1,57
PRE09	765	1,48
ANG01	502	1,56
CAM03	501	1,75
MOG03	559	1,94

Amostra	Concentração (ng/μL)	Relação 260/280
FLO01	599,34	1,52
FLO03	316,84	1,50
FLO05	128,57	1,70
CAR03	30,11	1,32
CAC03	95,27	2,01

Fonte: Próprio autor

5.1 Teste de Temperatura de Anelamento

Inicialmente, foram realizados testes para averiguar qual a melhor temperatura de anelamento dos *primers* para as regiões *psbA-trnH* e *ITS2*.

A temperatura escolhida foi de 56° C, pois para região *ITS2* foi a melhor temperatura, pois além da amostra L1, que foi amplificada nas três temperaturas, a amostra A04 foi amplificada somente a 56° C, e para região *psbA-trnH* também foi eficiente, podendo assim realizar as amplificações das duas regiões na mesma ciclagem.

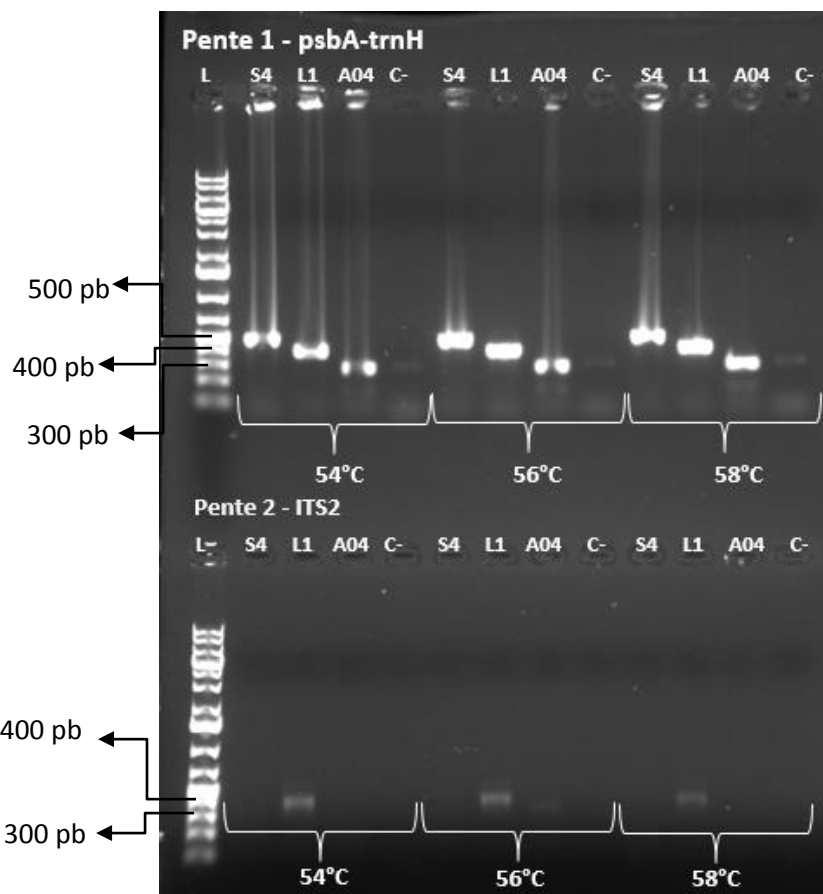


Figura 7: Eletroforese em gel de agarose do teste de temperatura da região *psbA-trnH* (300 a 500 pb) (pente 1) e *ITS2* (300 a 400 pb) (pente 2). (L) Marcador de Massa Molecular 1kb (*Invitrogen*). Amostras (S4) *Senna* IBIAP-04, (L1) *Lippia* IBIAP-01, (A04) AJC CE 004, (C-) controle da reação.

5.2 Teste de Concentração de DNA

Posteriormente foram realizados testes de concentração de DNA para amplificação para os três marcadores.

A concentração de DNA escolhida foi de 5 ng para amplificação por PCR para todos os marcadores; para a reação de sequenciamento, utilizou-se 5 ng do produto da PCR para reduzir o risco de perda do mesmo durante a purificação, assim, se ocorrer, ela não será significativa para a reação de sequenciamento.

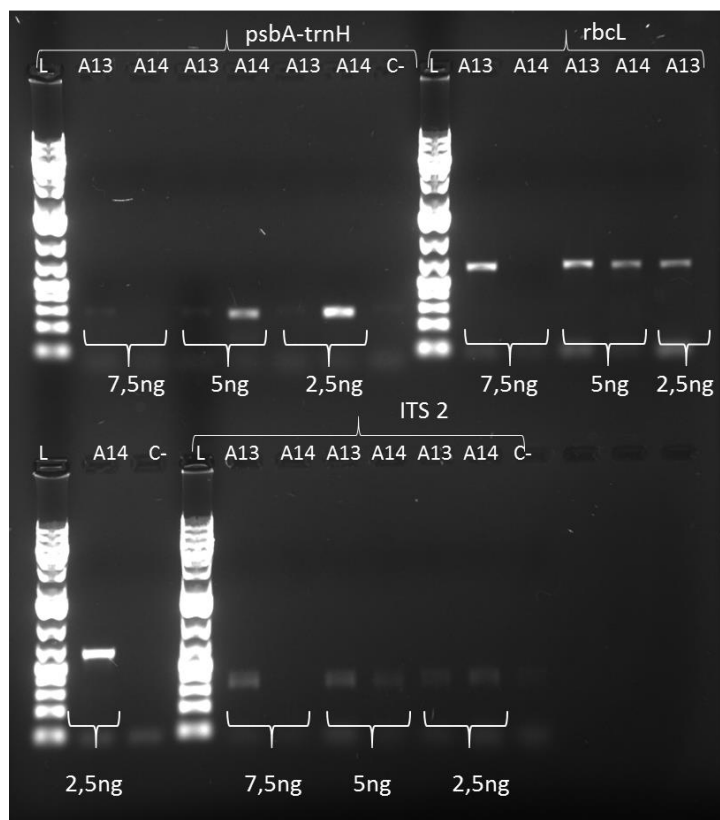


Figura 8: Eletroforese em gel de agarose do teste de concentrações. (L) Marcador de Massa Molecular 1kb (*Invitrogen*). Amostras (A13) *Casearia sylvestris*, (A14) *Casearia sylvestris*, (C-) controle da reação.

5.3 Amplificação por PCR e Sequenciamento

Foram analisados 36 dos 46 DNA extraídos, de diferentes gêneros de plantas terrestres, *Senna*, *Lantana* e *Casearia*, para as regiões *rbcL* e *psbA-trnH* e 20, para a região *ITS2*.

Nesta análise, não se obteve sucesso na amplificação das amostras PRE 07, PRE 09, ANG 01, CAM 03, MOG 03, FLO 01, FLO 03, FLO 05, CAR 03 e CAC 03 para as regiões *rbcL* e *psbA-trnH*.

Os perfis de amplificação para as regiões *rbcL*, *psbA-trnH* e *ITS2* estão documentados nas Figuras de 9 a 11.

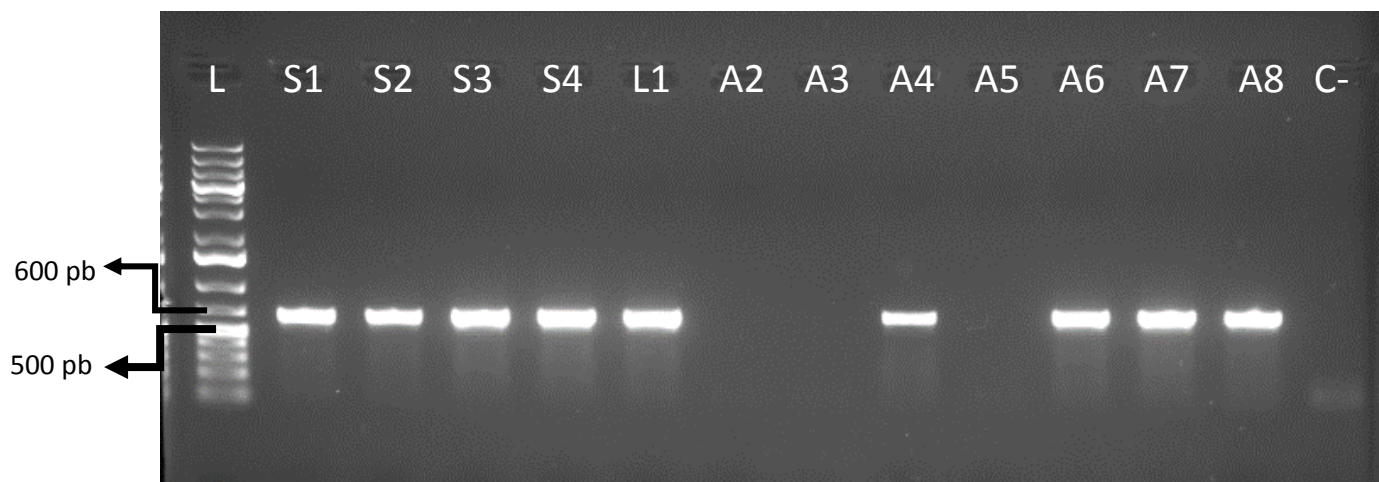


Figura 9: Eletroforese em gel de agarose da amplificação da região *rbcL*. (L) Marcador de Massa Molecular 1kb (*Invitrogen*). Amostras (S1) *Senna* IBIAP -01, (S2) *Senna* IBIAP – 02, (S3) *Senna* IBIAP – 03, (S4) *Senna* IBIAP – 04, (L1) *Lippia* IBIAP – 01, (A2) AJC CE 002, (A3) AJC CE 003, (A4) AJC CE 004, (A5) AJC CE 005, (A6) AJC CE 006, (A7) AJC CE 007, (A8) AJC CE 008, (C-) controle da reação.



Figura 10: Eletroforese em gel de agarose da amplificação da região *psbA-trnH*. (L) Marcador de Massa Molecular 1kb (*Invitrogen*). Amostras (S1) *Senna* IBIAP -01, (S2) *Senna* IBIAP – 02, (S3) *Senna* IBIAP – 03, (S4) *Senna* IBIAP – 04, (L1) *Lippia* IBIAP – 01, (A2) AJC CE 002, (A3) AJC CE 003, (A4) AJC CE 004, (A5) AJC CE 005, (A6) AJC CE 006, (A7) AJC CE 007, (A8) AJC CE 008, (C-) controle da reação.

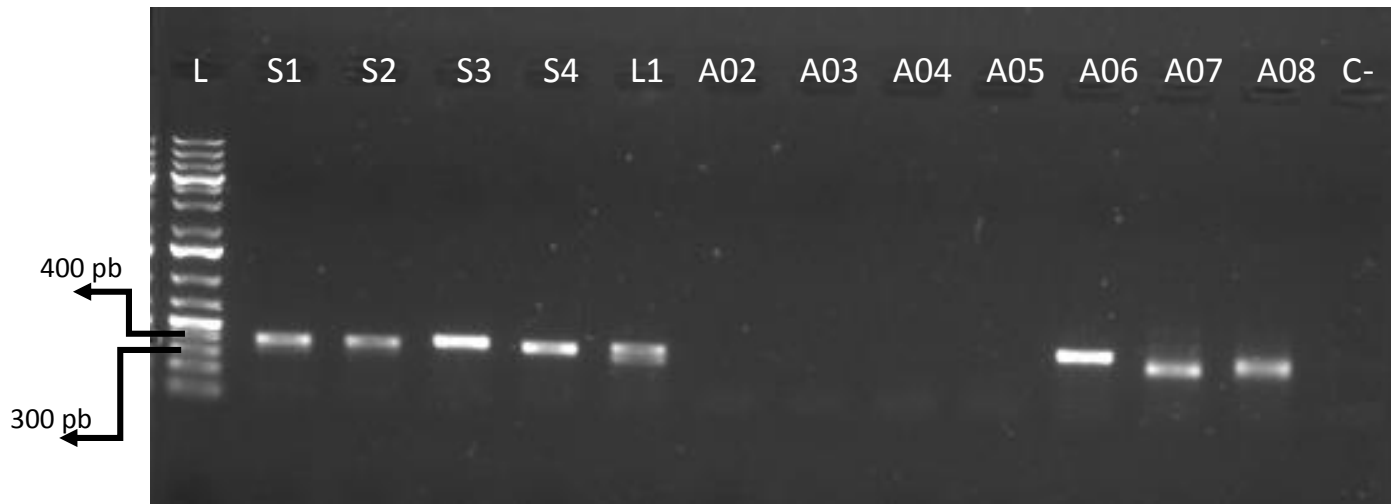


Figura 11: Eletroforese em gel de agarose da amplificação da região *ITS2*. (L) Marcador de Massa Molecular 1kb (*Invitrogen*). Amostras (S1) *Senna* IBIAP -01, (S2) *Senna* IBIAP – 02, (S3) *Senna* IBIAP – 03, (S4) *Senna* IBIAP – 04, (L1) *Lippia* IBIAP – 01, (A2) AJC CE 002, (A3) AJC CE 003, (A4) AJC CE 004, (A5) AJC CE 005, (A6) AJC CE 006, (A7) AJC CE 007, (A8) AJC CE 008, (C-) controle da reação.

As amostras que não foram amplificadas nestes géis, foram repetidas posteriormente, obtendo-se, portanto, à amplificação das 36 amostras para as regiões *rbcL* e *psbA-trnH* e 20 amostras para região *ITS2*.

O tamanho das sequências consenso após sequenciamento obtidas em pares de base (pb) está descrita na Tabela 5.

Tabela 5: Tamanho das sequências consenso obtidas.

<i>Amostra</i>	<i>ITS2 (pb)</i>	<i>psbA (pb)</i>	<i>rbcL (pb)</i>
<i>Senna 01</i>	307	326	558
<i>Senna 02</i>	266	363	569
<i>Senna 03</i>	305	292	524

<i>Amostra</i>	<i>ITS2 (pb)</i>	<i>psbA (pb)</i>	<i>rbcL (pb)</i>
Senna 04	302	348	536
Lippia 01	314	291	542
AJC CE 002	311	190	527
AJC CE 003	323	196	545
AJC CE 004	288	213	542
AJC CE 005	294	208	548
AJC CE 006	326	280	542
AJC CE 007	258	179	537
AJC CE 008	302	198	541
AJC CE 009	282	169	545
AJC CE 010	269	163	554
AJC CE 011	241	198	563
AJC CE 012	261	210	544
AJC CE 013	202	310	531
AJC CE 014	238	293	553
AJC CE 015	281	203	567
AJC CE 016	323	515	556
PRE05	NA	181	541
CAM 01	NA	216	576
CAM07	NA	257	487
MOG 01	NA	219	565
MOG04	NA	177	472
LUI 01	NA	223	552
LUI 05	NA	271	468
LUI 06	NA	214	554
ARA 09	NA	214	485
ARA13	NA	163	554
ARA14	NA	197	559
ANG 02	NA	252	554

Amostra	ITS2 (pb)	psbA (pb)	rbcL (pb)
CAR 01	NA	214	549
CAR 05	NA	206	568
CAC 01	NA	210	360
CAC 05	NA	257	437

NA – não amplificadas.

Fonte: Próprio autor

Os resultados obtidos da análise das sequências constam das Tabelas 6 a 8.

Tabela 6: Resultados obtidos no *BLAST* para região *rbcL* (03 de junho 2015).

Amostra	Espécie	Max Score	Total Score	Query Cover	E-value	Ident.	Query lenght
Senna 01	<i>Senna tora</i>	1022	1022	100%	0.0	99%	558
Senna 02	<i>Senna tora</i>	1046	1046	100%	0.0	99%	569
Senna 03	<i>Cassia javanica</i>	941/935	941/935	100%	0.0	99%	524
Senna 04	<i>Cassia roxburghii</i>	985/979	985/979	100%	0.0	99%	536
Lippia 01	<i>Lantana camara</i>	1002	1002	100%	0.0	100%	542
AJC CE 002	<i>Casearia sylvestris</i>	968	968	100%	0.0	99%	527
AJC CE 003	<i>Casearia sylvestris</i>	994	994	100%	0.0	99%	545
AJC CE 004	<i>Casearia sylvestris</i>	996	996	100%	0.0	99%	542
AJC CE 005	<i>Casearia sylvestris</i>	994	994	100%	0.0	99%	548
AJC CE 006	<i>Matayba guianensis</i>	1002	1002	100%	0.0	100%	542
AJC CE 007	<i>Casearia sylvestris</i>	953	953	100%	0.0	99%	537
AJC CE 008	<i>Casearia sylvestris</i>	961	961	100%	0.0	99%	541
AJC CE 009	<i>Casearia javitensis</i>	1007	1007	100%	0.0	100%	545
AJC CE 010	<i>Casearia sylvestris</i>	996	996	100%	0.0	99%	554
AJC CE 011	<i>Casearia sylvestris</i>	1002	1002	100%	0.0	99%	563
AJC CE 012	<i>Casearia sylvestris</i>	972	972	100%	0.0	99%	544
AJC CE 013	<i>Ephedranthus parviflorus</i>	981	981	100%	0.0	100%	531
AJC CE 014	<i>Matayba guianensis</i>	1022	1022	100%	0.0	100%	553
AJC CE 015	<i>Casearia sylvestris</i>	1022	1022	100%	0.0	99%	567

Amostra	Espécie	Max Score	Total Score	Query Cover	E-value	Ident.	Query lenght
AJC CE 016	<i>Guazuma ulmifolia</i>	1027	1027	100%	0.0	100%	556
PRE05	<i>Casearia sylvestris</i>	987	987	100%	0.0	99%	541
CAM 01	<i>Casearia sylvestris</i>	1051	1051	100%	0.0	99%	576
CAM07	<i>Casearia sylvestris</i>	845	845	100%	0.0	98%	487
MOG 01	<i>Casearia sylvestris</i>	1038	1038	100%	0.0	99%	565
MOG04	<i>Casearia sylvestris</i>	863	863	99%	0.0	99%	472
LUI 01	<i>Casearia sylvestris</i>	1007	1007	100%	0.0	99%	552
LUI 05	<i>Casearia sylvestris</i>	865	865	100%	0.0	100%	468
LUI 06	<i>Casearia sylvestris</i>	998	998	100%	0.0	99%	554
ARA 09	<i>Casearia sylvestris</i>	878	878	100%	0.0	99%	485
ARA13	<i>Casearia sylvestris</i>	1018	1018	100%	0.0	99%	554
ARA14	<i>Casearia sylvestris</i>	1027	1027	100%	0.0	99%	559
ANG 02	<i>Casearia sylvestris</i>	1016	1016	100%	0.0	99%	554
CAR 01	<i>Casearia sylvestris</i>	1000	1000	99%	0.0	99%	549
CAR 05	<i>Casearia sylvestris</i>	1050	1050	100%	0.0	100%	568
CAC 01	<i>Casearia sylvestris</i>	665	665	100%	0.0	100%	360
CAC 05	<i>Casearia sylvestris</i>	795	795	100%	0.0	99%	437

Fonte: Próprio autor

Tabela 7: Resultados obtidos no *BLAST* para região *psbA-trnH* (03 de junho 2015).

Amostra	Espécie	Max Score	Total Score	Query Cover	E-value	Ident.	Query lenght
Senna 01	<i>Caesalpinia eriostachys</i>	490	490	100%	6,00E-135	94%	326
Senna 02	<i>Caesalpinia eriostachys</i>	505	505	99%	2,00E-139	92%	363
Senna 03	<i>Senna tora</i>	407	407	100%	6,00E-110	92%	292
Senna 04	<i>Cassia javanica</i>	601	601	97%	3,00E-168	99%	348
Lippia 01	<i>Lantana camara</i>	532	532	100%	9,00E-148	99%	291
AJC CE 002	<i>Casearia praecox</i>	329	329	100%	8,00E-87	98%	191

Amostra	Espécie	Max Score	Total Score	Query Cover	E-value	Ident.	Query lenght
AJC CE 003	<i>Casearia praecox</i>	344	344	100%	3,00E-91	98%	196
AJC CE 004	<i>Casearia praecox</i>	375	375	100%	1,00E-100	99%	213
AJC CE 005	<i>Casearia praecox</i>	318	318	87%	2,00E-83	98%	208
AJC CE 006	<i>Rhysotoechia bifoliolata</i>	470	470	93%	7,00E-129	99%	280
AJC CE 007	<i>Casearia arborea</i>	281	281	87%	2,00E-72	99%	179
AJC CE 008	<i>Casearia arborea</i>	316	316	88%	6,00E-83	99%	198
AJC CE 009	<i>Casearia javitensis</i>	305	305	100%	1,00E-79	99%	169
AJC CE 010	<i>Casearia decandra</i>	176	176	100%	9,00E-41	86%	163
AJC CE 011	<i>Casearia arborea</i>	309	309	86%	1,00E-80	99%	198
AJC CE 012	<i>Casearia arborea</i>	311	311	83%	3,00E-81	99%	210
AJC CE 013	<i>Ephedranthus parviflorus</i>	562	562	100%	1,00E-156	99%	310
AJC CE 014	<i>Rhysotoechia bifoliolata</i>	483	483	91%	9,00E-133	99%	293
AJC CE 015	<i>Casearia sylvestris</i>	303	303	86%	5,00E-79	98%	203
AJC CE 016	<i>Guazuma ulmifolia</i>	952	952	100%	0.0	100%	515
PRE05	<i>Casearia praecox</i>	318	318	100%	2,00E-83	98%	181
CAM 01	<i>Casearia sylvestris</i>	355	355	95%	1,00E-94	98%	216
CAM07	<i>Casearia sylvestris</i>	361	361	80%	4,00E-96	98%	257
MOG 01	<i>Casearia praecox</i>	381	381	100%	2,00E-102	98%	219
MOG04	<i>Casearia sylvestris</i>	219	219	68%	2,00E-53	99%	177
LUI 01	<i>Casearia sylvestris</i>	357	357	91%	4,00E-95	98%	223
LUI 05	<i>Casearia praecox</i>	309	449	91%	1,00E-80	98%	271
LUI 06	<i>Casearia praecox</i>	268	268	80%	2,00E-68	95%	214
ARA 09	<i>Casearia sylvestris</i>	361	361	96%	3,00E-96	98%	214

Amostra	Espécie	Max Score	Total Score	Query Cover	E-value	Ident.	Query lenght
ARA13	<i>Casearia barteri</i>	143	143	88%	6,00E-31	81%	163
ARA14	<i>Casearia sylvestris</i>	294	294	90%	3,00E-76	97%	197
ANG 02	<i>Casearia sylvestris</i>	283	283	82%	8,00E-73	91%	252
CAR 01	<i>Casearia sylvestris</i>	357	357	95%	4,00E-95	98%	214
CAR 05	<i>Casearia sylvestris</i>	368	368	100%	2,00E-98	99%	206
CAC 01	<i>Casearia sylvestris</i>	289	289	95%	1,00E-74	93%	210
CAC 05	<i>Casearia sylvestris</i>	296	296	80%	1,00E-76	92%	257

Fonte: Próprio autor

Tabela 8: Resultados obtidos no *BLAST* para região *ITS2* (03 de junho 2015).

Amostra	Espécie	Max Score	Total Score	Query Cover	E-value	Ident.	Query lenght
Senna 01	<i>Poincianella pluviosa</i>	531	531	97%	3,00E-147	98%	317
Senna 02	<i>Poincianella pluviosa</i>	453	453	100%	6,00E-124	97%	266
Senna 03	<i>Senna gardneri</i>	481	481	99%	3,00E-132	95%	305
Senna 04	<i>Cassia grandis</i>	540	540	100%	5,00E-150	99%	302
Lippia 01	<i>Aloysia triphylla</i>	270	270	65%	8,00E-69	90%	314
AJC CE 002	<i>Fungal endophyte</i>	87.9	87.9	40%	9,00E-14	80%	311
AJC CE 003	<i>Teratosphaeria nubilosa</i>	119	119	37%	3,00E-23	85%	323
AJC CE 004	<i>Casearia velutina</i>	451	451	100%	2,00E-123	95%	288
AJC CE 005	<i>Uncultured endophytic fungus</i>	239	239	89%	2,00E-59	83%	294
AJC CE 006	<i>Matayba guianensis</i>	508	508	98%	2,00E-140	95%	326
AJC CE 007	<i>Uncultured Cladosporium</i>	364	364	96%	3,00E-97	93%	258
AJC CE 008	<i>Calicium sp.</i>	141	141	36%	6,00E-30	90%	302
AJC CE 009	<i>Scleroramularia shaanxiensis</i>	237	237	100%	7,00E-59	82%	282
AJC CE 010	<i>Zasmidium rothmanniae</i>	180	180	45%	1,00E-41	93%	269
AJC CE 011	<i>Uncultured fungus</i>	183	183	48%	8,00E-43	95%	241

Amostra	Espécie	Max Score	Total Score	Query Cover	E-value	Ident.	Query lenght
AJC CE 012	<i>Botryosphaeriales sp.</i>	211	211	100%	4,00E-51	82%	260
AJC CE 013	<i>Ascomycota sp.</i>	180	180	72%	9,00E-42	89%	202
AJC CE 014	<i>Matayba guianensis</i>	361	361	98%	3,00E-96	94%	238
AJC CE 015	<i>Casearia glomerata</i>	350	350	100%	9,00E-93	89%	281
AJC CE 016	<i>Guazuma ulmifolia</i>	542	542	99%	2,00E-150	97%	323

Fonte: Próprio autor

5.3.1 Comparação com sequências de Banco de Dados

Foi desenvolvido um banco de dados para *DNA Barcode* chamado *BOLD Systems* (RATNASINGHAM; HEBERT, 2007), onde há sequências de DNA de animais, região *COI*; fungos, região *ITS* e plantas, região *rbcL* e *matK*.

A comparação dos dados encontrados em ambos bancos de dados, *BLAST* e *BOLD Systems* está apresentada nas Tabelas 9 e 10.

Tabela 9: Comparação dos resultados entre banco de dados para região *rbcL*.

AMOSTRA	<i>BOLD Systems</i>	<i>BLAST</i>
SENNA 01	<i>Senna tora</i>	<i>Senna tora</i>
SENNA 02	<i>Senna tora</i>	<i>Senna tora</i>
SENNA 03	<i>Senna rizzini</i>	<i>Cassia javanica</i>
SENNA 04	<i>Cassia javanica subsp. nodosa</i>	<i>Cassia roxburghii</i>
LIPPIA 01	<i>Lantana camara</i>	<i>Lantana camara</i>
AJC CE 002	Malpighiales	<i>Casearia sylvestris</i>
AJC CE 003	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
AJC CE 004	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
AJC CE 005	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
AJC CE 006	<i>Synima reynoldsiae</i>	<i>Matayba guianensis</i>
AJC CE 007	<i>Casearia arborea</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
AJC CE 008	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
AJC CE 009	<i>Casearia javitensis</i>	<i>Casearia javitensis</i>
AJC CE 010	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>

AMOSTRA	BOLD Systems	BLAST
AJC CE 011	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
AJC CE 012	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
AJC CE 013	<i>Ephedranthus sp.</i>	<i>Ephedranthus parviflorus</i>
AJC CE 014	<i>Synima reynoldsiae</i>	<i>Matayba guianensis</i>
AJC CE 015	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
AJC CE 016	<i>Guazuma ulmifolia</i>	<i>Guazuma ulmifolia</i>
PRE05	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
CAM 01	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
CAM07	<i>Malpighiales</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
MOG 01	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
MOG04	<i>Malpighiales</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
LUI 01	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
LUI 05	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
LUI 06	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
ARA 09	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
ARA13	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
ARA14	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
ANG 02	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
CAR 01	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
CAR 05	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
CAC 01	<i>Malpighiales</i>	<i>Casearia sylvestris</i>
CAC 05	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>

Fonte: Próprio autor

Tabela 10: Comparação dos resultados entre banco de dados para região ITS2.

AMOSTRA	BOLD Systems	BLAST
SENNA 01	<i>Caesalpinia sappan</i>	<i>Poincianella pluviosa</i>
SENNA 02	<i>Caesalpinia sappan</i>	<i>Poincianella pluviosa</i>
SENNA 03	<i>Cassia auriculata</i>	<i>Senna gardneri</i>
SENNA 04	<i>Cassia fistula</i>	<i>Cassia grandis.</i>
LIPPIA 01	<i>Phyla nodiflora</i>	<i>Aloysia triphylla</i>
AJC CE 002	<i>Mycosphaerella coffeicola</i>	<i>Fungal endophyte</i>
AJC CE 003	<i>Teratosphaeria nubilosa</i>	<i>Teratosphaeria nubilosa</i>
AJC CE 004	<i>Populus alba</i>	<i>Casearia velutina</i>

AMOSTRA	BOLD Systems	BLAST
AJC CE 005	<i>Cladosporium perangustum</i>	<i>Uncultured endophytic fungus</i>
AJC CE 006	<i>Sapindus emarginatus</i>	<i>Matayba guianensis</i>
AJC CE 007	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	<i>Uncultured Cladosporium</i>
AJC CE 008	<i>Populus alba</i>	<i>Calicium sp.</i>
AJC CE 009	<i>Scleroramularia shaanxiensis</i>	<i>Scleroramularia shaanxiensis</i>
AJC CE 010	<i>Rimularia furvella</i>	<i>Zasmidium rothmanniae</i>
AJC CE 011	<i>Peltaster sp.</i>	<i>Uncultured fungus</i>
AJC CE 012	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	<i>Botryosphaerales sp.</i>
AJC CE 013	<i>Pseudocercospora sp.</i>	<i>Ascomycota sp.</i>
AJC CE 014	<i>Sapindus emarginatus</i>	<i>Matayba guianensis</i>
AJC CE 015	No Match	<i>Casearia glomerata</i>
AJC CE 016	<i>Malva parviflora</i>	<i>Guazuma ulmifolia</i>

Fonte: Próprio autor

A comparação não pode ser feita com a região *psbA-trnH* pois não há registros no *BOLD Systems*.

5.4 Sistemática Filogenética

As árvores desenvolvidas com o método *Neighbour-Joining* estão demonstradas nas Figuras 12 e 17.

Os alinhamentos das sequências analisadas neste trabalho estão apresentados nos Apêndices de A a H.

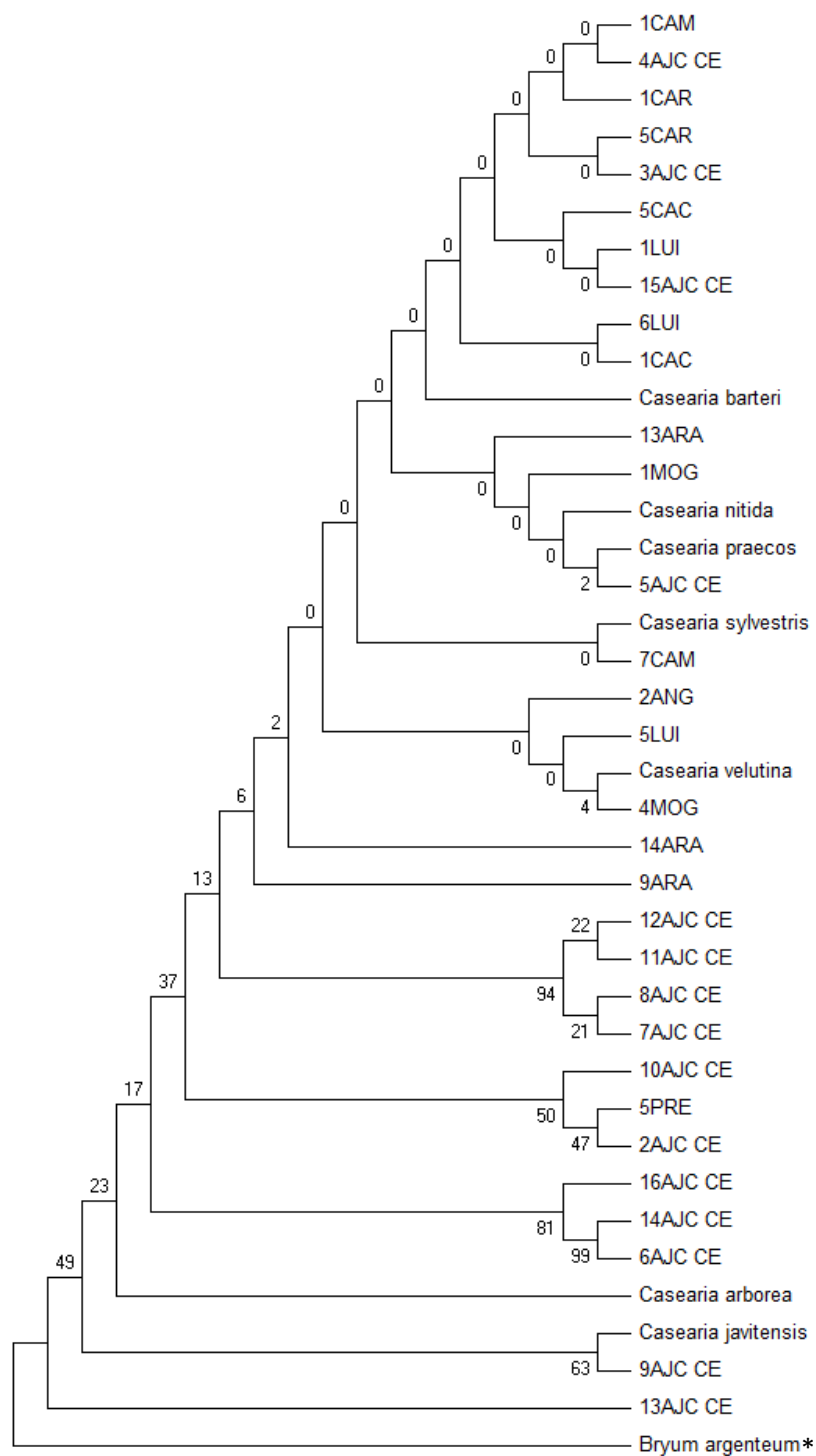


Figura 12: Árvore filogenética construída a partir do marcador *rbcL* com o gênero *Casearia*. O grupo externo* é a espécie *Bryum argenteum* Hedw.

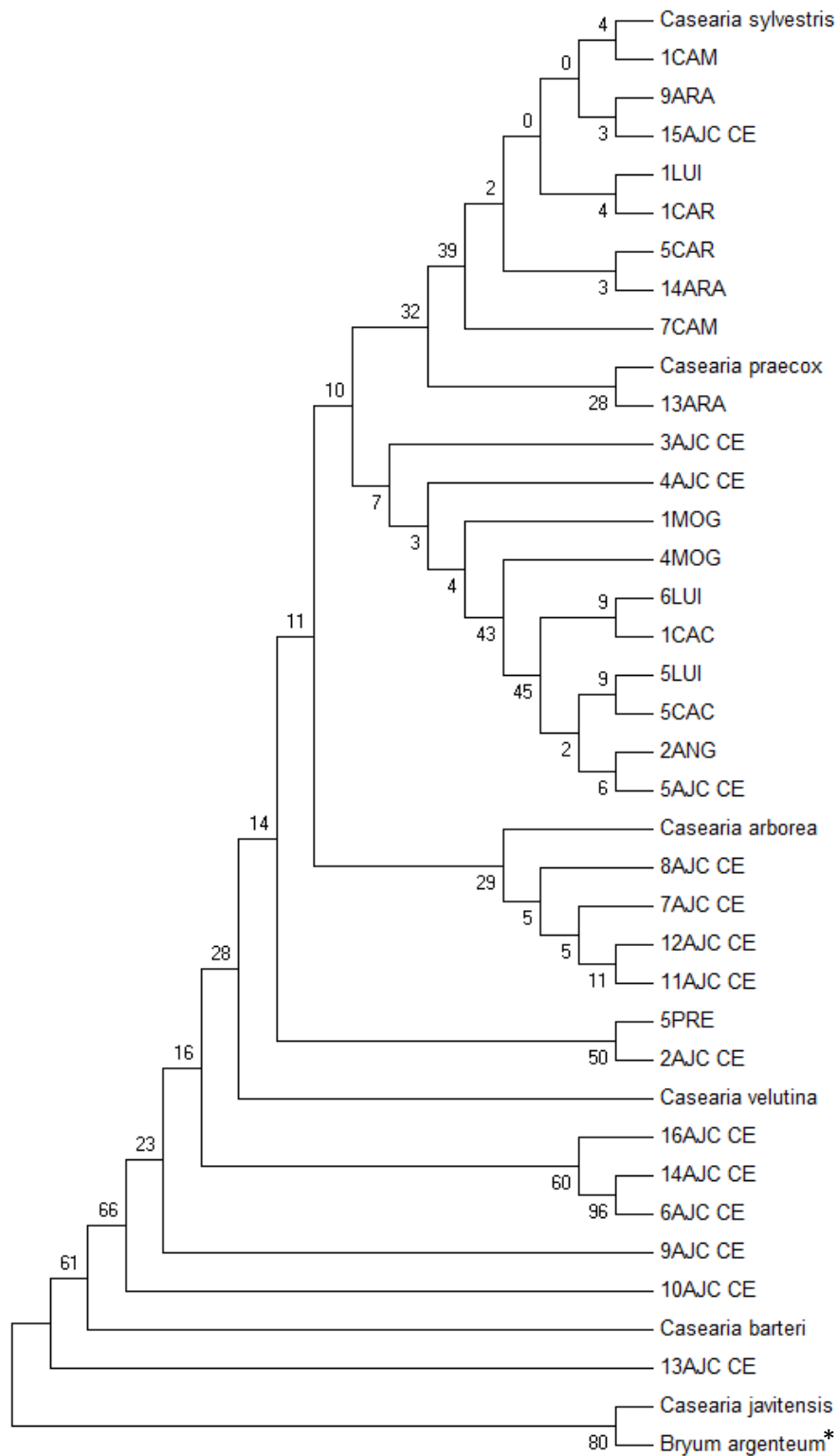


Figura 13: Árvore filogenética construída a partir do marcador *psbA-trnH* com o gênero *Casearia*. O grupo externo* é a espécie *Bryum argenteum* Hedw.

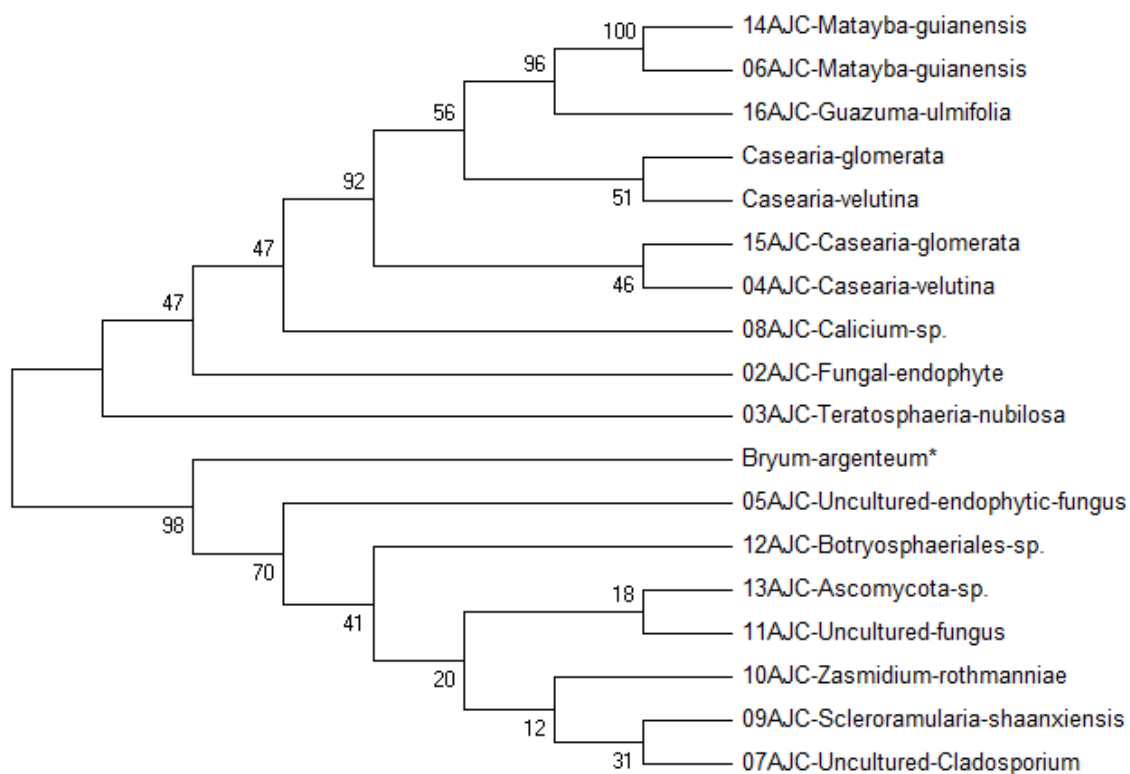


Figura 14: Árvore filogenética construída a partir do marcador *ITS2* com o gênero *Casearia*. O grupo externo* é a espécie *Bryum argenteum* Hedw.

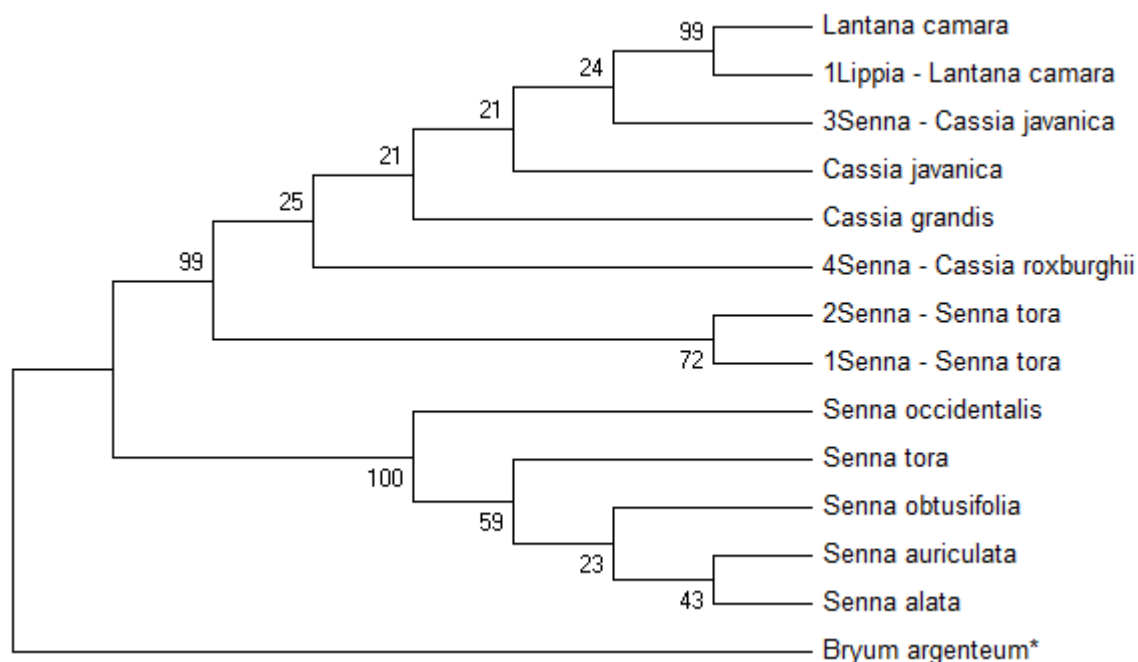


Figura 15: Árvore filogenética construída a partir do marcador *rbcL* com os gêneros *Senna* e *Lantana*. O grupo externo* é a espécie *Bryum argenteum* Hedw.

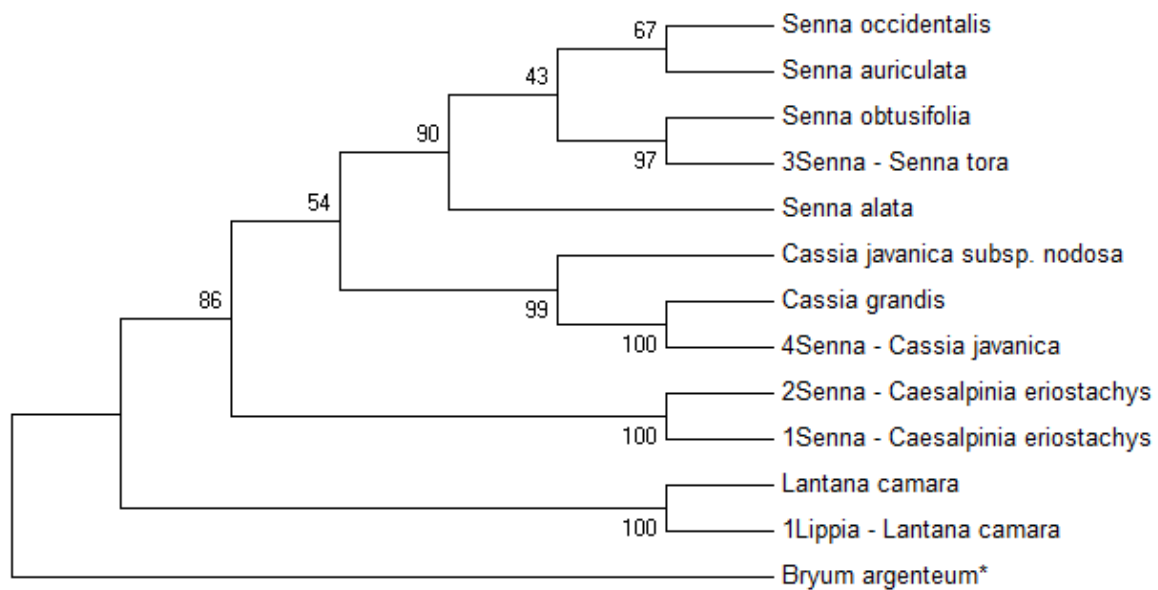


Figura 16: Árvore filogenética construída a partir do marcador *psbA-trnH* com os gêneros *Senna* e *Lantana*. O grupo externo* é a espécie *Bryum argenteum* Hedw.

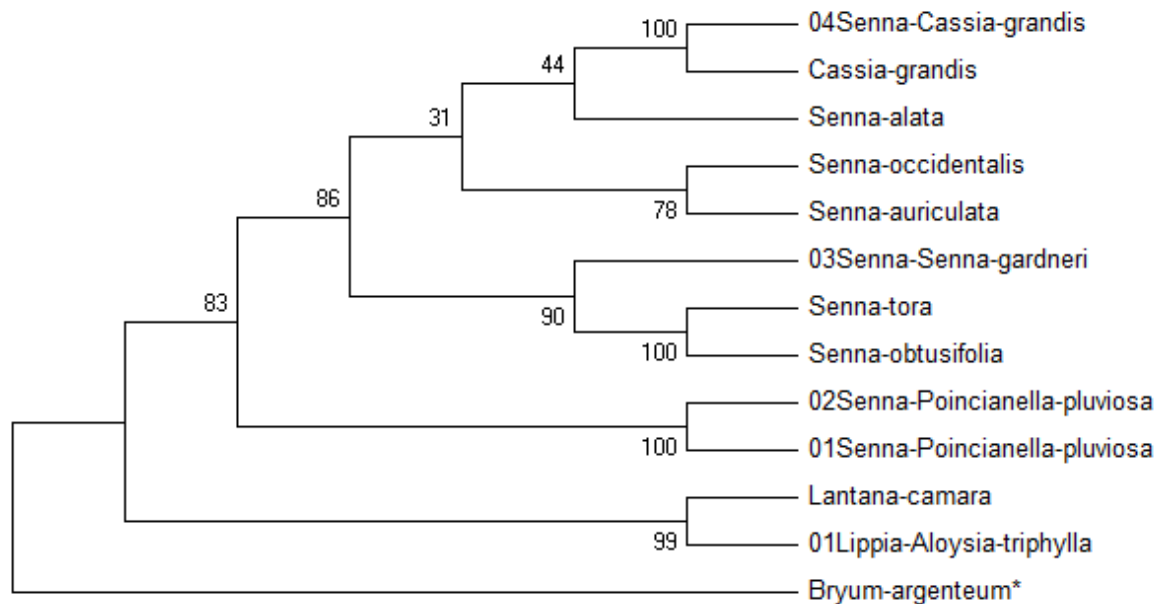


Figura 17: Árvore filogenética construída a partir do marcador *ITS2* com os gêneros *Senna* e *Lantana*. O grupo externo* é a espécie *Bryum argenteum* Hedw.

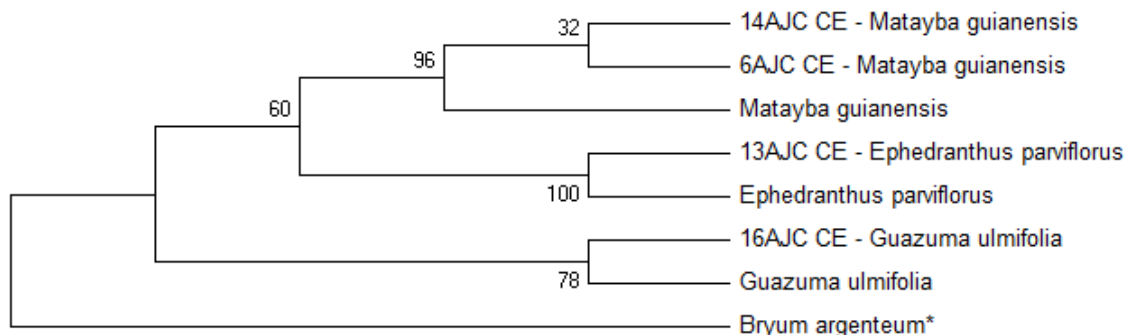


Figura 18: Árvore filogenética construída a partir do marcador *rbcL* com os gêneros *Matayba*, *Guazuma* e *Ephedranthus*. O grupo externo* é a espécie *Bryum argenteum* Hedw.

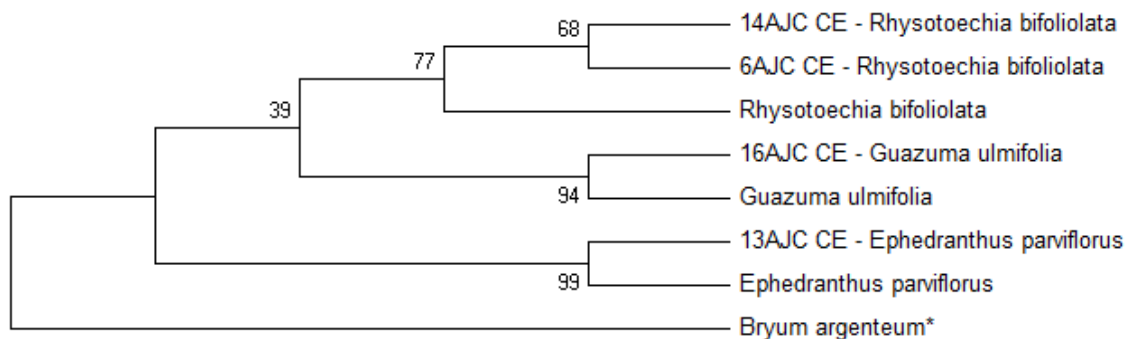


Figura 19: Árvore filogenética construída a partir do marcador *psbA-trnH* com os gêneros *Matayba*, *Guazuma* e *Ephedranthus*. O grupo externo* é a espécie *Bryum argenteum* Hedw.

5.5 Análises dos resultados obtidos

Após as análises os resultados foram agrupados na Tabela 11 para interpretação com maior clareza. Foi observado que as espécies encontradas para as diferentes regiões pertencem a mesma família. A região ITS2 apresentou em algumas amostras identidade com fungos endofíticos.

Tabela 11: Resumo dos resultados encontrados no *BLAST* com a classificação de família.

Amostra	<i>rbcL</i>	<i>psbA</i>	<i>ITS2</i>	Família	Identificação
Senna 01	<i>Senna tora</i>	<i>Caesalpinia eriostachys</i>	<i>Poincianella pluviosa</i>	Fabaceae	-
Senna 02	<i>Senna tora</i>	<i>Caesalpinia eriostachys</i>	<i>Poincianella pluviosa</i>	Fabaceae	-
Senna 03	<i>Cassia javanica</i>	<i>Senna tora</i>	<i>Senna gardneri</i>	Fabaceae	-
Senna 04	<i>Cassia roxburghii</i>	<i>Cassia javanica</i>	<i>Cassia grandis</i>	Fabaceae	-
Lippia 01	<i>Lantana camara</i>	<i>Lantana camara</i>	<i>Aloysia triphylla</i>	Verbenaceae	-
AJC CE 002	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia praecox</i>	<i>Fungal endophyte*</i>	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i>
AJC CE 003	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia praecox</i>	<i>Teratosphaeria nubilosa*</i>	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i>
AJC CE 004	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia praecox</i>	<i>Casearia velutina</i>	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>lingua</i>
AJC CE 005	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia praecox</i>	<i>Uncultured endophytic fungus*</i>	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i>
AJC CE 006	<i>Matayba guianensis</i>	<i>Rhysotoechia bifoliolata</i>	<i>Matayba guianensis</i>	Sapindaceae	Família Sapindaceae
AJC CE 007	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia arborea</i>	<i>Uncultured Cladosporium*</i>	Flacourtiaceae	<i>Casearia arborea</i>
AJC CE 008	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia arborea</i>	<i>Calicium sp.*</i>	Flacourtiaceae	<i>Casearia arborea</i>
AJC CE 009	<i>Casearia javitensis</i>	<i>Casearia javitensis</i>	<i>Scleroramularia shaanxiensis*</i>	Flacourtiaceae	<i>C. cf. commersoniana</i>
AJC CE 010	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia decandra</i>	<i>Zasmidium rothmanniae*</i>	Flacourtiaceae	<i>Casearia sp.</i>
AJC CE 011	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia arborea</i>	<i>Uncultured fungus*</i>	Flacourtiaceae	<i>Casearia cf. grandiflora</i>
AJC CE 012	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia arborea</i>	<i>Botryosphaeriales sp.*</i>	Flacourtiaceae	<i>Casearia cf. grandiflora</i>
AJC CE 013	<i>Ephedranthus parviflorus</i>	<i>Ephedranthus parviflorus</i>	<i>Ascomycota sp.*</i>	Annonaceae	Família Annonaceae
AJC CE 014	<i>Matayba guianensis</i>	<i>Rhysotoechia bifoliolata</i>	<i>Matayba guianensis</i>	Sapindaceae	Família Sapindaceae
AJC CE 015	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia glomerata</i>	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i>
AJC CE 016	<i>Guazuma ulmifolia</i>	<i>Guazuma ulmifolia</i>	<i>Guazuma ulmifolia</i>	Sterculiaceae	<i>Guazuma ulmifolia</i>

Amostra	<i>rbcL</i>	<i>psbA</i>	<i>ITS2</i>	Família	Identificação
PRE05	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia praecox</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i> /intermediária
CAM 01	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> intermediária
CAM07	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i>
MOG 01	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia praecox</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i> /intermediária
MOG04	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i> /intermediária
LUI 01	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i>
LUI 05	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia praecox</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i>
LUI 06	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia praecox</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i>
ARA 09	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> intermediária
ARA13	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia barteri</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i>
ARA14	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i>
ANG 02	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> var. <i>sylvestris</i> /intermediária
CAR 01	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i>
CAR 05	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestri</i> var. <i>lingua</i>
CAC 01	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> intermediária
CAC 05	<i>Casearia sylvestris</i>	<i>Casearia sylvestris</i>	NA	Flacourtiaceae	<i>Casearia sylvestris</i> intermediária

*Fungos endofíticos; NA – Não Avaliada. Fonte: Próprio autor

Discussão

6. Discussão

A busca por um *barcode* para plantas terrestres vem gerado várias discussões, mas ainda não foi possível chegar a um padrão como para animais e fungos. Um *DNA barcode* ideal deve ser rotineiramente recuperável com um único par de *primers*, ser passível de sequenciamento bidirecional com pouca exigência de edição manual e fornecer discriminação máxima entre as espécies (HOLLINGSWORTH et al., 2009).

Neste trabalho foi avaliado a eficácia de três *loci* (*psbA-trnH*, *rbcL* e *ITS2*) descritos como *DNA barcode* para identificação das espécies dos gêneros *Senna*, *Lantana* e *Casearia*, as quais estão inseridas dentro de importantes biomas brasileiros, o Cerrado e a Caatinga.

Dentro dos três *loci* escolhidos para este trabalho, as regiões *rbcL* e *psbA-trnH* mostraram-se eficientes na PCR e no sequenciamento, pois são regiões fáceis de amplificar e as sequências obtidas são de boa qualidade, necessitando de pouca edição manual.

Segundo Hollingsworth et al., (2009), as duas regiões possuem atributos desejáveis para um *barcode* de plantas terrestres, mas elas não preenchem os três critérios, ser rotineiramente recuperável com um único par de *primers*, ser passível de sequenciamento bidirecional com pouca exigência de edição manual e fornecer discriminação máxima entre as espécies, perfeitamente. A região *psbA-trnH* tem uma boa amplificação com um único par de *primers* e possui alto nível de discriminação, porém há problemas em se obter sequências bidirecionais de alta qualidade. A região *rbcL* é fácil de amplificar por PCR e de se obter sequências bidirecionais de alta qualidade, porém é uma região pouco variável, já que ela codifica a proteína ribulose-1,5-bisfosfato que é muito importante para fotossíntese.

Após o sequenciamento da região *ITS2* verificou-se algumas dificuldades no processamento das amostras, como problemas com sequências de baixa qualidade e identidade com fungos endofíticos como relatado anteriormente.

O termo endófito, originalmente descrito por De Bary em 1866, refere-se a qualquer micro-organismo que vive nos tecidos de plantas, distinguindo-se dos epifíticos que vivem na superfície. Os fungos endofíticos são um grupo diversificado de ascomicetos definidos por sua ocorrência assintomática nos tecidos vegetais.

Chen et al., 2010 comentaram que na Conferência de *DNA Barcode* na Cidade do México foi relatado que uma parcela significativa dos registros de plantas para *ITS2* no *GenBank* são sequências de fungos endófitos. Porém, em seu trabalho, com as sequências *ITS2*, analisadas usando BLAST, não encontrou quaisquer sequências fúngicas, devido ao conjunto de *primers* utilizados.

Por ser uma metodologia recente, não há sequências de dados nos bancos suficientes para suprir a necessidade das análises. Porém, avaliando os resultados encontrados, as espécies identificadas, para as três regiões estudadas, pertencem à mesma família.

Para a região *rbcL*, a discriminação de espécies foi de 84,37%, para a região *psbA-trnH* foi de 62,5%, e para região *ITS2* foi de 20%. Esse resultado é para as amostras com identificação morfo-anatômica. Nesta análise não foi possível identificar a variedade da espécie.

Quanto a comparação com sequências de bancos de dados, para região *rbcL*, 75% das amostras foram identificadas sendo a mesma espécie nos dois bancos analisados, e para região *ITS2* foi de 15%. O *BOLD Systems* por ser um banco de dados para *DNA Barcode* é um banco mais confiável, porém mais recente que o *BLAST*, tendo assim algumas falhas na identificação de espécies.

Dentro da topologia gerada a partir do método de *Neighbour-Joining*, no geral, a maioria das espécies se agruparam em seus respectivos gêneros. A região *psbA-trnH* apresentou árvores com maiores *bootstrap* para todos os gêneros analisados, apesar de algumas falhas.

Bootstrap mede a força de apoio (“confiança”) para o ramo de espécies: Se não há evidência clara para isso, uma atribuição confiante pode não ser possível

por qualquer método de atribuição de *barcode*, a menos que, todas as informações relevantes de haplótipos forem amostrados (FAZEKAS et al., 2008).

As informações geradas em estudos de *DNA Barcode* com a disponibilização dos dados em banco de dados de acesso público possibilitará avanços científicos sobre o tema, e podendo auxiliar a taxonomia na identificação de espécies.

Conclusão

7. Conclusão

Com os resultados obtidos neste trabalho, observou-se que a metodologia de *DNA Barcoding* é uma ferramenta aplicável para identificação das espécies vegetais aqui estudadas.

Observou-se que a amostra apresentada como pertencente ao gênero *Lippia*, na verdade pertence ao gênero *Lantana*. Ambos os gêneros são da família Verbenaceae.

Mostrou também que a região *rbcL* é uma ótima região para amplificação e sequenciamento, onde a discriminação de espécies foi de 84,37%, porém não foi muito eficiente para as análises filogenéticas.

A região *psbA-trnH* é menos efetiva na discriminação de espécie que a região *rbcL*, mas em análises filogenéticas têm uma melhor cobertura.

A região *ITS2* apresentou identidade com sequência de fungos, mostrando uma dificuldade na utilização desta região, porém foi a melhor região nas análises filogenéticas, com maiores valores de *bootstraps*, provavelmente devido as sequências de fungos.

Para análises de *DNA Barcode* para discriminação de espécies a melhor região é a *rbcL*, pois foi possível identificar ao nível de espécie 84,37% das amostras, e os 15,63% restantes, ao nível de gênero.

Referências

Referências

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Biodiversidade brasileira**. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/biodiversidade/biodiversidade-brasileira>>. Acesso em: 10 set. 2013.

CAVALLARI, M. M.; BILLOT, C.; BOUVET, J.-M.; FAVREAU, B.; ZUCCHI, M. I.; PALMIERI D. A.; GIMENES, M. A. Isolation and characterization of microsatellite markers for *Casearia sylvestris* Sw. (Salicaceae), a neotropical medicinal tree. **Molecular Ecology Resources**, v. 8, n. 4, p. 802-804, 2008.

CHEN, S.; YAO, H.; HAN, J.; LIU, C.; SONG, J.; SHI, L.; ZHU, Y.; MA, X.; GAO, T.; PANG, X.; LUO, K.; LI, Y.; LI, X.; JIA, X.; LIN, Y.; LEON, C. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. **PLoS ONE**, v. 5, n. 1, 2010. doi:10.1371/journal.pone.008613.

CONSORTIUM FOR THE BARCODE OF LIFE. **What is DNA barcoding?** Disponível em: <<http://www.barcodeoflife.org/content/about/what-dna-barcoding>>. Acesso em: 14 set. 2013.

COSTA, J. G. M. da; SOUSA, E. O. de; RODRIGUES, F. F. G.; LIMA, S. G. de; BRAZ-FILHO, R. Composição química e avaliação das atividades antibacteriana e de toxicidade dos óleos essenciais de *Lantana camara* L. e *Lantana* sp. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 3, p. 710-714, 2009.

COSTION, C.; FORD, A.; CROSS, H.; CRAYN, D.; HARRINGTON, M.; LOWE, A. Plant DNA barcodes can accurately estimate species richness in poorly known floras. **PLoS ONE**, v. 6, n. 11, 2011. doi:10.1371/journal.pone.0026841.

DANTAS, M. M.; SILVA, M. J. da. O gênero *Senna* Mill. (Leguminosae, Caesalpinioideae, Cassieae) no Parque Estadual da Serra Dourada, GO, Brasil. **Hoehnea**, v. 40, n. 1, p. 99-113, 2013.

FAZEKAS, A. J.; BURGESS, K. S.; KESANAKURTI, P. R.; GRAHAM, S. W.; NEWMASER, S. G.; HUSBAND, B. C.; PERCY, D. M.; HAJIBABAEI, M.; BARRETT, S. C. H. Multiple multilocus DNA barcodes from the plastid genome discriminate plant species equally well. **PLoS ONE**, v. 3, n. 7, 2008. doi:10.1371/journal.pone.002802.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, p. 95-98, 1999.

HEBERT, P. D. N.; GREGORY, T. R. The promise of DNA barcoding for taxonomy. **Systematic Botany**, v. 54, p. 852-859, 2005.

HEBERT, P. D. N.; CYWINSKA, A.; BALL, S. L.; DEWAARD, J. R. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 270, p. 313-321, 2003.

HOLLINGSWORTH, P. M.; FORREST, L. L.; SPOUGE, J. L.; HAJIBABAEI, M.; RATNASINGHAM, S.; van der BANK, M.; CHASE, M. W.; COWAN, R. S.; ERICKSON, D. L.; FAZEKAS, A. J.; GRAHAM, S. W.; JAMES, K. E.; KIM, K.-J.; KRESS, J. W.; SCHNEIDER, H.; van ALPHENSTAHL, J.; BARRETT, S. C. H.; van den BERG, C.; BOGARIN, D.; BURGESS, K. S.; CAMERON, K. M.; CARINE, M.; CHACÓN, J.; CLARK, A.; CLARKSON, J. J.; CONRAD, F.; DEVEY, D. S.; FORD, C. S.; HEDDERSON, T. A. J.; HOLLINGSWORTH, M. L.; HUSBAND, B. C.; KELLY, L. J.; KESANAKURTI, P. R.; KIM, J. S.; KIM, Y.-D.; LAHAYE, R.; LEE, H.-L.; LONG, D. G.; MADRIÑÁN, S.; MAURIN, O.; MEUSNIER, I.; NEWMASER, S. G.; PARK, C.-W.; PERCY, D. P.; PETERSEN, G.; RICHARDSON, J. E.; SALAZAR, G. A.; SAVOLAINEN, V.; SEBERG, O.; WILKINSON, M. J.; YI, D.-K.; LITTLE, D. P. A DNA barcode for land plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 31, p. 12794-12797, 2009.

JANÚARIO, B. B. **Aplicação de código de barras de DNA (DNA barcoding) na identificação das espécies *Senna Mill (Fabaceae)* e *Casearia Jacq. (Salicaceae)* para estudos de variabilidade genética**. 2014. 71 f. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2014.

JOLY, C. A.; HADDAD, C. F. B.; VERDADE, L. M.; OLIVEIRA, M. C.; BOLZANI, V. S. **Science plan and strategies for the next decade**. [S.l.]: Biota/FAPESP, 2009. Disponível em: <<http://www.fapesp.br/biota/10scienceplan.pdf>>. Acesso em: 14 set. 2013.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Biologia celular e molecular**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 299 p.

KLABUNDE, G. H. F. **Análise filogeográfica entre populações de *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze em sua área de distribuição natural**. 2012. 85 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2012.

KRESS, W. J.; ERICKSON, D. L.; JONES, F. A.; SWENSON, N. G.; PEREZ, R.; SANJUR, O.; BERMINGHAM, E. Plant DNA barcodes and a community phylogeny of a tropical forest dynamics plot in Panama. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 106, n. 44, p. 18621-18626, 2009.

LOMBARDO, M.; KIYOTA, S.; KANEKO, T. M. Aspectos étnicos, biológicos e químicos de *Senna occidentalis* (Fabaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada**, v. 30, n. 1, p. 9-17, 2009.

MARTINS, C. Ferramentas moleculares para o estudo de formigas: o caso do gênero *Linepithema* (Formicidae: Dolichoderinae) do estado de São Paulo. **Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 61-64, 2007.

MORAIS, A. S.; MARRELLI, M. T. Citocromo C oxidase I em subespécies do complexo *Culex pipiens* sul americano. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 55., 2009, Águas de Lindóia. **Resumos...** [S.l.]: SBG, 2009. Disponível em: <<http://web2.sbg.org.br/congress/sbg2008/pdfs2009/GA235-28614.pdf>>. Acesso em: 20 jan. 2015.

MORGULIS, A.; COULOURIS, G.; RAYTSELIS, Y.; MADDEN, T. L.; AGARWALA, R.; SCHÄFFER, A. A. Database indexing for production MegaBLAST searches. **Bioinformatics**, v. 24, p. 1757-1764, 2008.

MURRAY, M. G.; THOMPSON, W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. **Nucleic Acids Research**, v. 8, n. 19, p. 4321-4326, 1980.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **BLAST**. Disponível em: <<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>>. Acesso em: 20 jan. 2015.

NÚCLEO DE BIOENSAIOS, BÍOSSÍNTESE E ECOFISIOLOGIA DE PRODUTOS NATURAIS. **Histórico**. Disponível em: <<http://nubbe.iq.unesp.br/portal/historico.html>>. Acesso em: 19 set. 2013.

OLIVEIRA, K. Z. **Construção de árvores filogenéticas baseadas em genomas completos**. 2010. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência da Computação) - Instituto de Computação, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

PALMA, B. F.; FERRARI, A. B.; BITAR, R.A.; CARDOSO, M. A. G.; MARTIN, A. A.; MARTINHO, H. S. Sistemática de extração de DNA para estudos via espectroscopia raman. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 7.; ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 11.; ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DO ENSINO MÉDIO, 1., 2007, São José dos Campos. **Trabalhos...** [S.l.:s.n.], 2007. Disponível em: <http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2007/trabalhos/engenharias/inic/INICG00326_01O.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2015.

PEIXOTO, A. L.; MORIM, M. P. Coleções botânicas: documentação da biodiversidade brasileira. **Ciência e Cultura**, v. 55, n. 3, p. 21-24, 2003.

PENÃ, C. Métodos de inferencia filogenética. **Revista Peruana de Biologia**, v. 18, n. 2, p. 265-267, 2011.

PORTAL BRASIL. **Flora é reconhecida como uma das mais importantes do mundo**. Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/meio-ambiente/2012/04/flora-brasileira>>. Acesso em: 17 jul. 2015a.

- PORTAL BRASIL. **Região norte lidera extrativismos vegetal e mineral.** Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2012/04/regiao-norte-lidera-extrativismos-vegetal-e-mineral>>. Acesso em: 17 jul. 2015b.
- RATNASINGHAM, S.; HEBERT, P. D. N. BOLD: the Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). **Molecular Ecology Notes**, v. 7, n. 3, p. 355-364, 2007.
- SABATINI, G. Técnicas moleculares no diagnóstico da resistência. **Biológico**, São Paulo, v. 65, n. 1/2, p. 29-32, 2003.
- SAITOU, N; NEI, M. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. **Molecular Biology and Evolution**, v. 4, n. 4, p. 406-425, 1987.
- SANG, T.; CRAWFORD, D. J.; STUESSY, T. F. Chloroplast DNA phylogeny, reticulate evolution, and biogeography of *Paeonia* (Paeoniaceae). **American Journal of Botany**, v. 84, n. 9, p. 1120-1136, 1997.
- SISTEMA DE INFORMAÇÃO SOBRE A BIODIVERSIDADE BRASILEIRA. **A biodiversidade brasileira.** Disponível em: <<http://www.sibbr.gov.br/areas/?area=biodiversidade>>. Acesso em: 17 jul. 2015.
- SLEUMER, H. O. **Flacourtiaceae**. New York: Organization for Flora Neotropica, 1980. 499 p. (Flora neotropica monograph, n. 22).
- SPANDRE, P.; ZANETTE, F.; BIASI, L. A.; KOHELER, H. S.; NIESING, P. C. Estaquia caular de guaçatonga (*Casearia sylvestris* Swartz) nas quatro estações do ano, com aplicação de diferentes concentrações de AIB. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v. 14, n. 3, p. 529-536, 2012.
- TAMURA, K.; STECHER, G.; PETERSON, D.; FILIPSKI, A.; KUMAR, S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 12, p. 2725-2729, 2013.
- TININIS, A. G.; ASSONUMA, M. M.; TELASCREA, M.; PEREZ, C. C.; SILVA, M. R. S. R. M.; FAVORETO, R.; CAVALHEIRO, A. J. Composição e variabilidade química de óleo essencial de *Casearia sylvestris* SW. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 8, n. 4, p. 132-136, 2006.
- TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. **Microbiologia**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 894 p.
- VIANA, G. V. R. **Técnicas para construção de árvores filogenéticas**. 2007. 204 f. Tese (Doutorado em Computação) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.
- ZHANG, Z.; SCHWARTZ, S.; WAGNER, L.; MILLER, W. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. **Journal of Computational Biology**, v. 7, n. 1/2, p. 203-214, 2000.

Apêndice A: Alinhamento das sequências do gênero *Casearia* com o marcador *rbcL*.

5LUI-Casearia-sylvestris	-----
5CAC-Casearia-sylvestris	-----
07AJC-Casearia-sylvestris	-----GATTATAAATTGAATTATTATACTCCTGACTA
08AJC-Casearia-sylvestris	-----GATTATAAATTGAATTATTATACTCCTGACTA
12AJC-Casearia-sylvestris	-----TTATACTCCTGACTATGAAACCAAAGA
11AJC-Casearia-sylvestris	-----AAGATTATAAATTGAATTATTATACTCCTGACTA
09AJC-Casearia-javitensis	-----GATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTA
10AJC-Casearia-sylvestris	-----AAAGATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTA
9ARA-Casearia-sylvestris	-----
5PRE-Casearia-sylvestris	-----TATTATACTCCTGACTA
02AJC	-----GGCTGGTGTTAAAGATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTA
1MOG-Casearia-sylvestris	-----TTAAAGATTATAAATT-GACTTAT-----TATACTCCTGACTA
1CAM-Casearia-sylvestris	-----GGCTGGTGTTAAAGATTATAAATTTGACTTATTATACTCCTGACTA
04AJC-Casearia-sylvestris	-----GATTATAA-----ATTGACTTATTATACTCCTGACTA
03AJC-Casearia-sylvestris	-----GACTTATTATACTCCTTGACTA
05AJC-Casearia-sylvestris	-----TTATTATACTCCTTGACTA
15AJC-Casearia-sylvestris	-----GGTGTTAAAGAATTTATAAATTGGACTTATTATACTCCTGACTA
2ANG-Casearia-sylvestris	-----AAGATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTA
13ARA-Casearia-sylvestris	-----AAAGATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTA
14ARA-Casearia-sylvestris	-----TGTTAAAGATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTA
1CAR-Casearia-sylvestris	-----AGGGCGGGTGTTAAAGATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTA
5CAR-Casearia-sylvestris	-----GGCTGGTGTTAAAGATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTA
1LUI-Casearia-sylvestris	-----TTAAAGATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTA
6LUI-Casearia-sylvestris	-----TTATAAATTTGACTTATTATACTCCTGACTA
7CAM-Casearia-sylvestris	-----AAATGGACTTATTATCTCCTGACTA
4MOG-Casearia-sylvestris	-----TTAATTGACTTATTATACTCCTGACTA
Casearia-sylvestris	AAGTGTTGGATTGANGGCTGGTGTTAAAGATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTA

1CAC-Casearia-sylvestris	-----
5LUI-Casearia-sylvestris	-----
5CAC-Casearia-sylvestris	-----
07AJC-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA-GTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
08AJC-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA-GTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
12AJC-Casearia-sylvestris	TAC-----TGATATCTTGGCAGCATTCCGA-GTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
11AJC-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA-GTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
09AJC-Casearia-javitensis	TGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA-CGAGTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
10AJC-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA-CCGAGTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
9ARA-Casearia-sylvestris	-----GCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
5PRE-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
02AJC	TGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGA-GTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
1MOG-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATTTTGGCAGCATTCCGA-GTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
1CAM-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATTTTGGCAGCATTCCGA-GTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
04AJC-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATTTTGGCAGCATTCCGA-GTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
03AJC-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATTTTGGCAGCATTCCGA-GTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
05AJC-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATTTTGGCAGCATTCCGA-GTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
15AJC-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATTTTGGCAGCATTCCGA-GTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
2ANG-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATTTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAACCCGGGGTTC
13ARA-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATTTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCA-ACCCGGGGTTC
14ARA-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATTTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAA-CCCGGGGTTC
1CAR-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATTTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAACCC-GGGGTTC
5CAR-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAACCC-GGGGTTC
1LUI-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATTTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAACC-CGGGGTTC
6LUI-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATTTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAACCCGGGGTTCC
7CAM-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATTAATAAAAAATTCCGAGTAACTCCTCAACCCGGG-GTTC
4MOG-Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATTTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAACCCGGG-GTTC

Casearia-sylvestris	TGAAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAACCCGGG-GTTC
1CAC-Casearia-sylvestris	-----CCGAGTAACTCCTCAACCCGGG-GTTC
5LUI-Casearia-sylvestris	-----GCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
5CAC-Casearia-sylvestris	-----TAGCTGCTGAA---TCTTCTACTGGTACATTGGACAACCTG
07AJC-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
08AJC-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
12AJC-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
11AJC-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
09AJC-Casearia-javitensis	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
10AJC-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
9ARA-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
5PRE-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
02AJC	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
1MOG-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
1CAM-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
04AJC-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
03AJC-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
05AJC-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
15AJC-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
2ANG-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
13ARA-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
14ARA-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
1CAR-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
5CAR-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
1LUI-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
6LUI-Casearia-sylvestris	GCCTCGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG
7CAM-Casearia-sylvestris	CGCCTGAGGAAGCAGGAGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTG

4MOG-Casearia-sylvestris
Casearia-sylvestris
1CAC-Casearia-sylvestris

5LUI-Casearia-sylvestris
5CAC-Casearia-sylvestris
07AJC-Casearia-sylvestris
08AJC-Casearia-sylvestris
12AJC-Casearia-sylvestris
11AJC-Casearia-sylvestris
09AJC-Casearia-javitensis
10AJC-Casearia-sylvestris
9ARA-Casearia-sylvestris
5PRE-Casearia-sylvestris
02AJC
1MOG-Casearia-sylvestris
1CAM-Casearia-sylvestris
04AJC-Casearia-sylvestris
03AJC-Casearia-sylvestris
05AJC-Casearia-sylvestris
15AJC-Casearia-sylvestris
2ANG-Casearia-sylvestris
13ARA-Casearia-sylvestris
14ARA-Casearia-sylvestris
1CAR-Casearia-sylvestris
5CAR-Casearia-sylvestris
1LUI-Casearia-sylvestris
6LUI-Casearia-sylvestris

7CAM-Casearia-sylvestris
4MOG-Casearia-sylvestris
Casearia-sylvestris
1CAC-Casearia-sylvestris

TGTGGACCGACGGGCTTACCA GTCTTGATCGTTATAAAGGACGATGCTACGACATCGAGC
TGTGGACCGACGGGCTTACCA GTCTTGATCGTTATAAAGGACGATGCTACGACATCGAGC
TGTGGACCGACGGGCTTACCA GTCTTGATCGTTATAAAGGACGATGCTACGACATCGAGC
TGTGGACCGACGGGCTTACCA GTCTTGATCGTTATAAAGGACGATGCTACGACATCGAGC

6LUI-Casearia-sylvestris
7CAM-Casearia-sylvestris
4MOG-Casearia-sylvestris
Casearia-sylvestris
1CAC-Casearia-sylvestris

CCGTTGCTGGAGAAGAAAATCAATATATTGCTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTG
CCGTTGCTGGAGAAGAAAATCAATATATTGCTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTG
CCGTTGCTGGAGAAGAAAATCAATATATTGCTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTG
CCGTTGCTGGAGAAGAAAATCAATATATTGCTTATGTAGCTTACCCCTTAGACCTTTTTG

5LUI-Casearia-sylvestris
5CAC-Casearia-sylvestris
07AJC-Casearia-sylvestris
08AJC-Casearia-sylvestris
12AJC-Casearia-sylvestris
11AJC-Casearia-sylvestris
09AJC-Casearia-javitensis
10AJC-Casearia-sylvestris
9ARA-Casearia-sylvestris
5PRE-Casearia-sylvestris
02AJC
1MOG-Casearia-sylvestris
1CAM-Casearia-sylvestris
04AJC-Casearia-sylvestris
03AJC-Casearia-sylvestris
05AJC-Casearia-sylvestris
15AJC-Casearia-sylvestris
2ANG-Casearia-sylvestris
13ARA-Casearia-sylvestris
14ARA-Casearia-sylvestris
1CAR-Casearia-sylvestris
5CAR-Casearia-sylvestris

AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG

1LUI-Casearia-sylvestris
6LUI-Casearia-sylvestris
7CAM-Casearia-sylvestris
4MOG-Casearia-sylvestris
Casearia-sylvestris
1CAC-Casearia-sylvestris

AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG
AAGAAGGTTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAG

5LUI-Casearia-sylvestris
5CAC-Casearia-sylvestris
07AJC-Casearia-sylvestris
08AJC-Casearia-sylvestris
12AJC-Casearia-sylvestris
11AJC-Casearia-sylvestris
09AJC-Casearia-javitensis
10AJC-Casearia-sylvestris
9ARA-Casearia-sylvestris
5PRE-Casearia-sylvestris
02AJC
1MOG-Casearia-sylvestris
1CAM-Casearia-sylvestris
04AJC-Casearia-sylvestris
03AJC-Casearia-sylvestris
05AJC-Casearia-sylvestris
15AJC-Casearia-sylvestris
2ANG-Casearia-sylvestris
13ARA-Casearia-sylvestris
14ARA-Casearia-sylvestris
1CAR-Casearia-sylvestris

CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAGTCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAGTCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAGTCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTACGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTACGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC
CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACTTTCC

5CAR-Casearia-sylvestris
 1LUI-Casearia-sylvestris
 6LUI-Casearia-sylvestris
 7CAM-Casearia-sylvestris
 4MOG-Casearia-sylvestris
 Casearia-sylvestris
 1CAC-Casearia-sylvestris

CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACCTTTCC
 CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACCTTTCC
 CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACCTTTCC
 CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACCTTTCC
 CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACCTTTCC
 CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACCTTTCC
 CCCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTCCTGCTTATTCTAAAACCTTTCC

5LUI-Casearia-sylvestris
 5CAC-Casearia-sylvestris
 07AJC-Casearia-sylvestris
 08AJC-Casearia-sylvestris
 12AJC-Casearia-sylvestris
 11AJC-Casearia-sylvestris
 09AJC-Casearia-javitensis
 10AJC-Casearia-sylvestris
 9ARA-Casearia-sylvestris
 5PRE-Casearia-sylvestris
 02AJC
 1MOG-Casearia-sylvestris
 1CAM-Casearia-sylvestris
 04AJC-Casearia-sylvestris
 03AJC-Casearia-sylvestris
 05AJC-Casearia-sylvestris
 15AJC-Casearia-sylvestris
 2ANG-Casearia-sylvestris
 13ARA-Casearia-sylvestris
 14ARA-Casearia-sylvestris

AAGGCCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGCCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGACCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGACCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGACCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGACCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGCCCCGCCTCATGGCATCCAAGTTGAAAGAGATAAATTGAATAAGTATGGTCGCCCCC
 AAGGCCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGTCCAC
 AAGGCCCCCCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTCTGGCCGCCCCC
 AAGGCCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGCCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGCCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGCCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGCCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGCCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGCCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGCCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGCCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC
 AAGGCCCACCTCATGGCATCCAAGTTGAGAGAGATAAATTGAATAAGTATGGCCGCCCCC

1CAR-Casearia-sylvestris
5CAR-Casearia-sylvestris
1LUI-Casearia-sylvestris
6LUI-Casearia-sylvestris
7CAM-Casearia-sylvestris
4MOG-Casearia-sylvestris
Casearia-sylvestris
1CAC-Casearia-sylvestris

5LUI-Casearia-sylvestris
5CAC-Casearia-sylvestris
07AJC-Casearia-sylvestris
08AJC-Casearia-sylvestris
12AJC-Casearia-sylvestris
11AJC-Casearia-sylvestris
09AJC-Casearia-javitensis
10AJC-Casearia-sylvestris
9ARA-Casearia-sylvestris
5PRE-Casearia-sylvestris
02AJC
1MOG-Casearia-sylvestris
1CAM-Casearia-sylvestris
04AJC-Casearia-sylvestris
03AJC-Casearia-sylvestris
05AJC-Casearia-sylvestris
15AJC-Casearia-sylvestris
2ANG-Casearia-sylvestris
13ARA-Casearia-sylvestris

14ARA-Casearia-sylvestris	TATTGGGCTGTACTATTAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAATTACGGTAGAGCAG
1CAR-Casearia-sylvestris	TATTGGGCTGTACTATTAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAATTACGGTAGAGCAG
5CAR-Casearia-sylvestris	TATTGGGCTGTACTATTAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAATTACGGTAGAGCAG
1LUI-Casearia-sylvestris	TATTGGGCTGTACTATTAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAATTACGGTAGAGCAG
6LUI-Casearia-sylvestris	TATTGGGCTGTACTATTAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAATTACGGTAGAGCAG
7CAM-Casearia-sylvestris	TATTGGGCTGTACTATTAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAA-----
4MOG-Casearia-sylvestris	TATTGGGCTGTACTATTAACCAAAA-----
Casearia-sylvestris	TATTGGGCTGTACTATTAACCAAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAATTACGGTAGAGCAG
1CAC-Casearia-sylvestris	-----
5LUI-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTTTACTAAAGATGACGAGAACGTGAACTCC
5CAC-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACACGGTGGACTTGATTTTACTAAAGA-----
07AJC-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTTTACGCGGTGGACTT-----
08AJC-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTTTACGCGGTGGACTTGATT-----
12AJC-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTTTACGCGGTGGACTTGATTTTACTAAAGATGACGAGAAC-----
11AJC-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTTTACGCGGTGGACTTGATTTTACTAAAGATGACGAGAAC-----
09AJC-Casearia-javitensis	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTTTAC-----
10AJC-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGGGGACTTGATTTTACTAAAGA-----
9ARA-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTT-----
5PRE-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTTTACTAAAGATGAC-----
02AJC	TTT-----
1MOG-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTTTACTAAAGATGACGAGAA-----
1CAM-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTTTACTAAAGATGACGAGAACG-----
04AJC-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTT-----
03AJC-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTTTACTAAAGATGAC-----
05AJC-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTTTACTAAAGATGACGAGAAC-----
15AJC-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTTTACTAAAGATGAC-----
2ANG-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTTTACTAAAGA-----

13ARA-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTTTACTAAAGA-----
14ARA-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTTTACTAAAGAT-----
1CAR-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGA-----
5CAR-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTGATTTTACTAAAGATGAC-----
1LUI-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACCTTGATTTTACT-----
6LUI-Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTACGCGGTGGACTTTGATTTTACTAAAGATG-----
7CAM-Casearia-sylvestris	-----
4MOG-Casearia-sylvestris	-----
Casearia-sylvestris	TTTATGAATGTCTA-----
1CAC-Casearia-sylvestris	-----

Apêndice B: Alinhamento das sequências dos gêneros *Senna* e *Lantana* com o marcador *rbcL*.

Senna-alata	GGGCGTTCCTATCGTAATGCATGACTACTTAACAGGGGG-----ATTCACTGCAAATA
Senna-auriculata	GGGCGTTCCTATCGTAATGCATGACTACTTAACAGGGGG-----ATTCACTGCAAATA
Senna-occidentalis	GGGCGTTCCTATCGTAATGCATGACTACTTAACAGGGGG-----ATTCACTGCAAATA
Senna-tora	GGGCGTTCCTATCGTAATGCATGACTACTTAACAGGGGG-----ATTCACTGCAAATA
Senna-obtusifolia	GGGCGTTCCTATCGTAATGCATGACTACTTAACAGGGGG-----ATTCACTGCAAATA
Lantana-camara	-----AAAAGAGTACAAATTGACTTATTATACTCCTGAATACGAAACCAAAGATACTG
01Lippia-Lantanacamara	-----GAGTACAAATTGACTTATTATACTCCTGAATACGAAACCAAAGATACTG
03Senna-Cassia-javanica	-----ATACTCCTGATTATGAAACCAAAGATACTG
Cassia-grandis	-----TAAAGATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGAAACCAAAGATACTG
02Senna-Senna-tora	-----TAAAGATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGAAACCAAAGATACTG
01Senna-Senna-tora	-----ATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGAAACCAAAGATACTG
Cassia-javanica	-----TAAAGATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGAAACCAAAGATACTG
04Senna-Cassia-roxburghii	-----ATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGACTATGAAACCAAAGATACTG

* * * * *

Senna-alata	CTAGCTTGGCTCATTATTGCCGGGATAATGGTCTACTTCTTCATATCCATCGTGCAATGC
-------------	--

Senna-auriculata	CTAGCTTGGCTCATTATTGCCGGGATAATGGTCTACTTCTTCATATCCATCGTGCAATGC
Senna-occidentalis	CTAGCTTGGCTCATTATTGCCGGGATAATGGTCTACTTCTTCATATCCATCGTGCAATGC
Senna-tora	CTAGCTTGGCTCATTATTGCCGGGATAATGGTCTACTTCTTCATATCCATCGTGCAATGC
Senna-obtusifolia	CTAGCTTGGCTCATTATTGCCGGGATAATGGTCTACTTCTTCATATCCATCGTGCAATGC
Lantana-camara	ATATCTTGGCAGCATT---TCGAGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAAGAAGCGG
01Lippia-Lantanacamara	ATATCTTGGCAGCATT---TCGAGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCCACCTGAAGAAGCGG
03Senna-Cassia-javanica	ATATCTTGGCAGCATT---CCGAGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCGG
Cassia-grandis	ATATCTTGGCAGCATT---CCGAGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAG
02Senna-Senna-tora	ATATCTTGGCAGCATT---CCGAGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAG
01Senna-Senna-tora	ATATCTTGGCAGCATT---CCGAGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAG
Cassia-javanica	ATATCTTGGCAGCATT---CCGAGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCGG
04Senna-Cassia-roxburghii	ATATCTTGGCAGCATT---CCGAGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCCGCCTGAAGAAGCAG
	** *
Senna-alata	ATGCAGTTATCGATAGACAGAAGAATCATGGTATGCACCTTCGTGTACTAGCTAAAGCGT
Senna-auriculata	ATGCAGTTATCGATAGACAGAAGAATCATGGTATGCACCTTCGTGTACTAGCTAAAGCGT
Senna-occidentalis	ATGCAGTTATCGATAGACAGAAGAATCATGGTATGCACCTTCGTGTACTAGCTAAAGCGT
Senna-tora	ATGCAGTTATCGATAGACAGAAGAATCATGGTATGCACCTTCGTGTACTAGCTAAAGCGT
Senna-obtusifolia	ATGCAGTTATCGATAGACAGAAGAATCATGGTATGCACCTTCGTGTACTAGCTAAAGCGT
Lantana-camara	GGGCCGCGGTAGCT-----GCCGAATCTTCTACGGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGA
01Lippia-Lantanacamara	GGGCCGCGGTAGCT-----GCCGAATCTTCTACGGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGA
03Senna-Cassia-javanica	GTGCCGCGGTAGCT-----GCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGA
Cassia-grandis	GTGCCGCGGTAGCT-----GCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGA
02Senna-Senna-tora	GTGCCGCGGTAGCT-----GCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGA
01Senna-Senna-tora	GTGCCGCGGTAGCT-----GCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGA
Cassia-javanica	GTGCCGCGGTAGCT-----GCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGA
04Senna-Cassia-roxburghii	GTGCCGCGGTAGCT-----GCTGAATCTTCTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGA
	** *

Senna-alata	TACGTTTGTCTGGTGGAGATCATAT---TCACGCTGGTACCGTAGTAGGTAAACTTGAAG
Senna-auriculata	TACGTTTGTCTGGTGGAGATCATAT---TCACGCTGGTACCGTAGTAGGTAAACTTGAAG
Senna-occidentalis	TACGTTTATCTGGTGGAGATCATAT---TCACGCTGGTACCGTAGTAGGTAAACTTGAAG
Senna-tora	TACGTTTGTCTGGTGGAGATCATAT---TCACGCTGGTACCGTAGTAGGTAAACTTGAAG
Senna-obtusifolia	TACGTTTGTCTGGTGGAGATCATAT---TCACGCTGGTACCGTAGTAGGTAAACTTGAAG
Lantana-camara	TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGGCGATGCTACAACA-TCGAGCCCGTTCCTG
01Lippia-Lantanacamara	TGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGGCGATGCTACAACA-TCGAGCCCGTTCCTG
03Senna-Cassia-javanica	TGGGCTTACCAGTCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACA-TCGAGCCCGTTGCTG
Cassia-grandis	TGGGCTTACCAGTCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACA-TCGAGCCCGTTGCTG
02Senna-Senna-tora	TGGGCTTACCAGTCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACA-TCGAGCCCGTTGCTG
01Senna-Senna-tora	TGGGCTTACCAGTCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACA-TCGAGCCCGTTGCTG
Cassia-javanica	TGGGCTTACCAGTCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACA-TCGAGCCCGTTGCTG
04Senna-Cassia-roxburghii	TGGGCTTACCAGTCTTGATCGTTACAAAGGACGATGCTACCACA-TCGAGCCCGTTGCTG
	* ** * * ** ** ** *** * * * ** *
Senna-alata	GGGAAAGAGAGATCACTTTAGGCTTTGTTGATTTACTACGTGATGATTATATTGAAAAAG
Senna-auriculata	GGGAAAGAGAGATCACTTTAGGCTTTGTTGATTTACTACGCGATGATTTTGTGAAAAAG
Senna-occidentalis	GGGAAAGAGAGATCACTTTAGGCTTTGTTGATTTACTACGCGATGATTTTGTGAAAAAG
Senna-tora	GGGAAAGAGAGATCACTTTAGGCTTTGTTGATTTACTACGCGATGATTTTGTGAAAAAG
Senna-obtusifolia	GGGAAAGAGAGATCACTTTAGGCTTTGTTGATTTACTACGCGATGATTTTGTGAAAAAG
Lantana-camara	G--AGAACCAGATCAATATATTTGTTATGTAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGG
01Lippia-Lantanacamara	G--AGAACCAGATCAATATATTTGTTATGTAGCTTACCCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGG
03Senna-Cassia-javanica	G--AGAAGAAAATCAATATATTGCTTATGTAGCTTATCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGG
Cassia-grandis	G--AGAAGAAAATCAATATATTGCTTATGTAGCTTATCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGG
02Senna-Senna-tora	G--AGAAGAAAATCAATATATTGCTTATGTAGCTTATCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGG
01Senna-Senna-tora	G--AGAAGAAAATCAATATATTGCTTATGTAGCTTATCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGG
Cassia-javanica	G--AGAAGAAAATCAATATATTGCTTATGTAGCTTATCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGG
04Senna-Cassia-roxburghii	G--AGAAGAAAATCAATATATTGCTTATGTAGCTTATCCCTTAGACCTTTTTGAAGAAGG
	* * * * *** * ** ** * * * * * * * * *

Senna-alata	ATCGAAGCC-GCGGTATTTATTTT-CTCAGGATTGGGTCTCTCTACCGGGTGTCTGCC
Senna-auriculata	ATAGAAGCC-GCGGTATTTATTTT-CTCAGGATTGGGTCTCTCTACCGGGTGTCTGCC
Senna-occidentalis	ATCGAAGCC-GCGGTATTTATTTT-CTCAGGATTGGGTCTCTCTACCGGGTGTCTGCC
Senna-tora	ATCGAAGCC-GCGGTATTTATTTT-CTCAGGATTGGGTCTCTCTACCGGGTGTCTACC
Senna-obtusifolia	ATCGAAGCC-GCGGTATTTATTTT-CTCAGGATTGGGTCTCTCTACCGGGTGTCTACC
Lantana-camara	TTCGGTTACGAACATGTTTACTTCCATCGTAGGAAATGTATT-----TGGATTCAAAGC
01Lippia-Lantanacamara	TTCGGTTACGAACATGTTTACTTCCATCGTAGGAAATGTATT-----TGGATTCAAAGC
03Senna-Cassia-javanica	TTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATT-----TGGGTTCAAGGC
Cassia-grandis	TTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATT-----TGGGTTCAAGGC
02Senna-Senna-tora	TTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATT-----TGGGTTCAAGGC
01Senna-Senna-tora	TTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATT-----TGGGTTCAAGGC
Cassia-javanica	TTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATT-----TGGGTTCAAGGC
04Senna-Cassia-roxburghii	TTCTGTTACTAACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATT-----TGGGTTCAAGGC
	* * * **** *** * * ** * ** *

Senna-alata	CGTTGCTTCGGGGGGTATTCACGTTTGGCATATGCCGCTCTTACCGAGATCTTTGGAGA
Senna-auriculata	CGTTGCTTCGGGGGGTATTCACGTTTGGCATATGCCTGCTCTTACCGAGATCTTTGGAGA
Senna-occidentalis	CGTTGCTTCGGGGGGTATTCACGTTTGGCATATGCCTGCTCTTACCGAGATCTTTGGAGA
Senna-tora	CGTTGCTTCGGGGGGTATTCACGTTTGGCATATGCCTGCTCTTACCGAGATCTTTGGAGA
Senna-obtusifolia	CGTTGCTTCGGGGGGTATTCACGTTTGGCATATGCCTGCTCTTACCGAGATCTTTGGAGA
Lantana-camara	CCTACGTGCTCTACGTCTGGAAGATCTGCGAATCCCTGTTGCTTAT-----GTTAAA
01Lippia-Lantanacamara	CCTACGTGCTCTACGTCTGGAAGATCTGCGAATCCCTGTTGCTTAT-----GTTAAA
03Senna-Cassia-javanica	CCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTACTTCTTAT-----GTTAAA
Cassia-grandis	CCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTATTTCTTAT-----ATTAAA
02Senna-Senna-tora	CCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTACTTCTTAT-----ACTAAA
01Senna-Senna-tora	CCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTACTTCTTAT-----ACTAAA
Cassia-javanica	CCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTATTTCTTAT-----ATTAAA
04Senna-Cassia-roxburghii	CCTGCGCGCTCTACGTCTGGAGGATTTGCGAATCCCTATTTCTTAT-----ATTAAA

* * * * * * * * * * * *

Senna-alata	TGATTCCGTA	CTACAATT	CGGTGGAG	GAAC	TTTAGGG	CACC	CTTGGG	GAAATG	CACCCG	G
Senna-auriculata	TGATTCCGTA	CTACAATT	CGGTGGAG	GAAC	TTTAGGG	CACC	CTTGGG	GAAATG	CACCTG	G
Senna-occidentalis	TGATTCCGTA	CTACAATT	CGGTGGAG	GAAC	TTTAGGG	CACC	CTTGGG	GAAATG	CACCCG	G
Senna-tora	TGATTCCGTA	CTACAATT	CGGTGGAG	GAAC	TTTAGGG	CACC	CTTGGG	GAAATG	CACCCG	G
Senna-obtusifolia	TGATTCCGTA	CTACAATT	CGGTGGAG	GAAC	TTTAGGG	CACC	CTTGGG	GAAATG	CACCCG	G
Lantana-camara	ACTTTCCA	AGGCC	CACCTC	ATGGG	ATCCA	ATCTG	AGAGAG	-----	ATAA	ATTGAACAAG
01Lippia-Lantanacamara	ACTTTCCA	AGGCC	CACCTC	ATGGG	ATCCA	ATCTG	AGAGAG	-----	ATAA	ATTGAACAAG
03Senna-Cassia-javanica	ACTTTCCA	AGGTCCG	CCTCAC	GGCAT	CCAAG	TGAGAG	AG-----	ATAA	ATTGAACAAG	
Cassia-grandis	ACTTTCCA	AGGTCCG	CCCCAC	GGCAT	CCAAG	TGAGAG	AG-----	ATAA	ATTGAACAAG	
02Senna-Senna-tora	ACTTTCCA	AGGTCCG	CCTCAC	GGCAT	CCAAG	TGAGAG	AG-----	ATAA	ATTGAACAAG	
01Senna-Senna-tora	ACTTTCCA	AGGTCCG	CCTCAC	GGCAT	CCAAG	TGAGAG	AG-----	ATAA	ATTGAACAAG	
Cassia-javanica	ACTTTCCA	AGGTCCG	CCTCAC	GGCAT	CCAAG	TGAGAG	AG-----	ATAA	ATTGAACAAG	
04Senna-Cassia-roxburghii	ACTTTCCA	AGGTCCG	CCTCAC	GGCAT	CCAAG	TGAGAG	AG-----	ATAA	ATTGAACAAG	

***** * * * * * ***** * * *

Senna-alata	TGCCGTAG	CTAATCG	AGTAG	CTCTAG	AAGCAT	GTGTAC	AGGCTC	GTAA	TGAGGG	ACGTGA
Senna-auriculata	TGCCGTAG	CTAATCG	AGTAG	CTCTAG	AAGCAT	GTGTAC	AGGCTC	GTAA	TGAGGG	ACGTGA
Senna-occidentalis	TGCCGTAG	CTAATCG	AGTAG	CTCTAG	AAGCAT	GTGTAC	AGGCTC	GTAA	TGAGGG	ACGTGA
Senna-tora	TGCCGTAG	CTAATCG	AGTAG	CTCTAG	AAGCAT	GTGTAC	AGGCTC	GTAA	TGAGGG	ACGTGA
Senna-obtusifolia	TGCCGTAG	CTAATCG	AGTAG	CTCTAG	AAGCAT	GTGTAC	AGGCTC	GTAA	TGAGGG	ACGTGA
Lantana-camara	TATGGTC	GTCCC	CTGTT	GGGAT	GTACT	ATTA	AAAC	TAAAT	TGGGG	TATCTG-CTAAAAA
01Lippia-Lantanacamara	TATGGTC	GTCCC	CTGTT	GGGAT	GTACT	ATTA	AAAC	TAAAT	TGGGG	TATCTG-CTAAAAA
03Senna-Cassia-javanica	TACGGCC	GTCCC	CTATT	GGGAT	GTACT	ATTA	AAAC	TAAAT	TGGGG	TATCCG-CTAAGAA
Cassia-grandis	TATGGCC	GTCCC	CTATT	GGGAT	GTACT	ATTA	AAAC	TAAAT	TGGGG	TATCCG-CTAAGAA
02Senna-Senna-tora	TACGGCC	GTCCC	CTATT	GGGAT	GTACT	ATTA	AAAC	TAAAT	TGGGG	TATCCG-CTAAGAA
01Senna-Senna-tora	TACGGCC	GTCCC	CTATT	GGGAT	GTACT	ATTA	AAAC	TAAAT	TGGGG	TATCCG-CTAAGAA
Cassia-javanica	TACGGCC	GTCCC	CTATT	GGGAT	GTACT	ATTA	AAAC	TAAAT	TGGGG	TATCCG-CTAAGAA

04Senna-Cassia-roxburghii	TACGGCCGTCCCCTATTGGGATGTACTATTAACCTAAATTGGGGTTATCCG-CTAAGAA * * * * * * * * * * * *
Senna-alata	TCTTGCTCGTGAGGGTAATGAAATTATTCGTGAGGCTAGCAAATGGAGTC---CTGAATT
Senna-auriculata	TCTTGCTCGTGAGGGTAATGAAATTATTCGTGAGGCTAGCAAATGGAGTC---CTGAATT
Senna-occidentalis	TCTTGCTCGTGAGGGTAATGAAATTATTCGTGAGGCTAGCAAATGGAGTC---CTGAATT
Senna-tora	TCTTGCTCGTGAGGGTAATGAAATTATTCGTGCGGCTAGCAAATGGAGTC---GTGAATT
Senna-obtusifolia	TCTTGCTCGTGAGGGTAATGAAATTATTCGTGCGGCTAGCAAATGGAGTC---CTGAATT
Lantana-camara	CTATGGTAGAGCATGTTATGAATGTCTTCG-----
01Lippia-Lantanacamara	CTATGGTAGAGCATGTTATGAATGTCTTCGCGGTGGACTTGATTT-----
03Senna-Cassia-javanica	TTACGGTAGAGCAGTTTATGAATGTCTCCGCGGTGGACTTGATTT-----
Cassia-grandis	TTACGGTAGAGCAGTTTATGAATGTCTC-----
02Senna-Senna-tora	TTACGGTAGAGCTGTTTATGAATGTCTCCGCGGTGGACTTGATTTTACCAAAGATGATGA
01Senna-Senna-tora	TTACGGTAGAGCTGTTTATGAATGTCTCCGCGGTGGACTTGATTTTACCAAAGATGATRA
Cassia-javanica	TTACGGTAGAGCAGTTTATGAATGTCTCCGCGGTGGACTTGATTTTACCAAAGATGATGA
04Senna-Cassia-roxburghii	TTACGGTAGAGCAGTTTATGAATGTCTCCGCGGTGGACTT----- * * * * * * * * * *
Senna-alata	AGCTGCTGCTT
Senna-auriculata	AGCTGCTGCTT
Senna-occidentalis	AGCTGCTGCTT
Senna-tora	AGCTGCTGCTT
Senna-obtusifolia	AGCTGCTGCTT
Lantana-camara	-----
01Lippia-Lantanacamara	-----
03Senna-Cassia-javanica	-----
Cassia-grandis	-----
02Senna-Senna-tora	GAATGTGA---
01Senna-Senna-tora	GA-----

Cassia-javanica	GAATGTGA---
04Senna-Cassia-roxburghii	-----

Apêndice C: Alinhamento das sequências dos gêneros *Guazuma*, *Matayba* e *Ephedranthus* com o marcador *rbcL*.

G.crinita	-----TTTAAGTTCAACCAACCTATCGCAAGTGGATAAATAAAAAATTTGGAGAGA
Ephedranthus-parviflorus	CAAACAGAACTAAAGCAAGTGTGGATTCAAAGCTGGT---GTTAAAGAGTACAAATTG
13AJC-Ephedranthus-parviflorus	-----TTGACTTATTATACTC-----CTGAATATGAAACCAAA
E.boliviensis	--TGTTGGATTCAAAGCTGGTG-----TTAAAGAGTACAAATTG
M.domingensis	-----AAGTGTTGGATTCAAAGCCGGT---GTTAAAGATTATAAATTG
06AJC-Matayba-guianensis	-----GATTATAAATTG
14AJC-Matayba-guianensis	-----ATTATAAATTG
Matayba-guianensis	-----GCAAGTGTTGGATTCAAAGCCGGT---GTTAAAGATTATAAATTG
16AJC-Guazuma-ulmifolia	-----AAGAGTATAAATTGACTTAT---TATACTCCTGAATATCAA
Guazuma-ulmifolia	-----AGTGTTGGATTCTAGCTGGT---GTTAAAGAGTATAAATTG

G.crinita	GTCTTTCATTTGTCTATCATTATAGGCAATAACGTCCATATTATCTATGGAATTCGAACC
Ephedranthus-parviflorus	ACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACCGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTA
13AJC-Ephedranthus-parviflorus	-----GATACCGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTA
E.boliviensis	ACTTATTATACTCCTGAATATGAAACCAAAGATACCGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTA
M.domingensis	ACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTA
06AJC-Matayba-guianensis	ACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTA
14AJC-Matayba-guianensis	ACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTA
Matayba-guianensis	ACTTATTATACTCCTGACTATGTAACCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCATTCCGAGTA
16AJC-Guazuma-ulmifolia	GTCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCC-----TTCCGAGTA
Guazuma-ulmifolia	ACTTATTATACTCCTGAATATCAAGTCAAAGATACTGATATCTTGGCAGCCTTCCGAGTA

* **

G.crinita	TGAACTCTATTTACGATTCTTATTTCTATCTCATTAGCCCGTATTTTCAATTCGTATTTT
Ephedranthus-parviflorus	ACTCCTCAACCCGGAGTTCGCCCCGAAGAAGCAGG--GGCTGCGGTAGCTGCCGAATCTT
13AJC-Ephedranthus-parviflorus	ACTCCTCAACCCGGAGTTCGCCCCGAAGAAGCAGG--GGCTGCGGTAGCTGCCGAATCTT
E.boliviensis	ACTCCTCAACCCGGAGTTCGCCCCGAAGAAGCAGG--GGCTGCGGTAGCTGCCGAATCTT
M.domingensis	ACTCCTCAACCTGGGGTTACGCCCCGAGGAAGCAGG--GGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTT
06AJC-Matayba-guianensis	ACTCCTCAACCTGGGGTTCCGCCCCGAGGAAGCAGG--AGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTT
14AJC-Matayba-guianensis	ACTCCTCAACCTGGGGTTCCGCCCCGAGGAAGCAGG--AGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTT
Matayba-guianensis	ACTCCTCAACCTGGGGTTCCGCCCCGAGGAAGCAGG--AGCCGCGGTAGCTGCGGAATCTT
16AJC-Guazuma-ulmifolia	ACTCCTCAACCCGGAGTTCGCTGAGGAAGCAGG--GGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTT
Guazuma-ulmifolia	ACTCCTCAACCCGGAGTTCGCTGAGGAAGCAGG--GGCCGCGGTAGCTGCTGAATCTT
	*** * ** * * * * * * * * **
G.crinita	ATTTTAGCATATCGATTTTTTTTACGTCCA----ACCTAGCCCCGTTTTTTTTCATCTCT
Ephedranthus-parviflorus	CTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGATGGACTTACCAGCCTTGAT---CGTTACA
13AJC-Ephedranthus-parviflorus	CTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGATGGACTTACCAGCCTTGAT---CGTTACA
E.boliviensis	CTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGATGGACTTACCAGCCTTGAT---CGTTACA
M.domingensis	CTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGAT---CGTTACA
06AJC-Matayba-guianensis	CTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGAT---CGTTACA
14AJC-Matayba-guianensis	CTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGAT---CGTTACA
Matayba-guianensis	CTACTGGTACATGGACAACCTGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGAT---CGTTACA
16AJC-Guazuma-ulmifolia	CTACTGGTACATGGACAACCGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGAT---CGTTACA
Guazuma-ulmifolia	CTACTGGTACATGGACAACCGTGTGGACCGATGGGCTTACCAGCCTTGAT---CGTTACA
	* * * * ** ** * * ** * ** * * ** * * * *
G.crinita	ATTCCTTTTTTTTTTTCATTTTCATGAATGAATTCCGCATATTTTACAGCTACGATTTAC
Ephedranthus-parviflorus	AAGGACGATGCTACCAC-----ATCGAGCCCGT-TGCTGGGGAGGAAAATCA
13AJC-Ephedranthus-parviflorus	AAGGACGATGCTACCAC-----ATCGAGCCCGT-TGCTGGGGAGGAAAATCA
E.boliviensis	AAGGACGATGCTACCAC-----ATCGAGCCCGT-TGCTGGGGAGGAAAATCA

M.domingensis	AAGGACGATGCTACAAC-----ATTGAGCCTGT-TGCTGGAGAAGAAAATCA
06AJC-Matayba-guianensis	AAGGACGATGCTACAAC-----ATTGAGCCTGT-TGCTGGAGAAGAAAATCA
14AJC-Matayba-guianensis	AAGGACGATGCTACAAC-----ATTGAGCCTGT-TGCTGGAGAAGAAAATCA
Matayba-guianensis	AAGGACGATGCTACAAC-----ATTGAGCCTGT-TGCTGGAGAAGAAAATCA
16AJC-Guazuma-ulmifolia	AAGGGCGATGCTACCAC-----ATCGAGCCTGT-TCCTGGAGAAGAAGATCA
Guazuma-ulmifolia	AAGGGCGATGCTACCAC-----ATCGAGCCTGT-TCCTGGAGAAGAAGATCA
	* * * * ** ** * * * * *
 G.crinita	 ATATACAACATATATTACTGTCAAGAGTGAATCTCTTATTTCTTATTGTTTATATTATAA
Ephedranthus-parviflorus	ATATATTGCTTATGTAGCTTACCCTTTAGACC---TTTTTGAAGA-GGGTTCTGTTACTA
13AJC-Ephedranthus-parviflorus	ATATATTGCTTATGTAGCTTACCCTTTAGACC---TTTTTGAAGA-GGGTTCTGTTACTA
E.boliviensis	ATATATTGCTTATGTAGCTTACCCTTTAGACC---TTTTTGAAGA-GGGTTCTGTTACTA
M.domingensis	ATATATATGTTATGTAGCTTACCCTTTAGACC---TTTTTGAAGA-AGGTTCTGTTACTA
06AJC-Matayba-guianensis	ATATATATGTTATGTAGCTTACCCTTTAGACC---TTTTTGAAGA-AGGTTCTGTTACTA
14AJC-Matayba-guianensis	ATATATATGTTATGTAGCTTACCCTTTAGACC---TTTTTGAAGA-AGGTTCTGTTACTA
Matayba-guianensis	ATATATATGTTATGTAGCTTACCCTTTAGACC---TTTTTGAAGA-AGGTTCTGTTACTA
16AJC-Guazuma-ulmifolia	ATATATATGTTATGTAGCTTACCCTTTAGACC---TTTTTGAAGA-AGGTTCTGTTACTA
Guazuma-ulmifolia	ATATATATGTTATGTAGCTTACCCTTTAGACC---TTTTTGAAGA-AGGTTCTGTTACTA
	***** *** * ** * ** ** ** * * ** * *** *
 G.crinita	 TATCTTTTAATTTGAATTTATATTCTAAAATTCTATAT----TTATTTATATTATTTATA
Ephedranthus-parviflorus	ATATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCTCTACGAGCTCTACGTC
13AJC-Ephedranthus-parviflorus	ATATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCTCTACGAGCTCTACGTC
E.boliviensis	ATATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCTCTACGAGCTCTACGTC
M.domingensis	ACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTC
06AJC-Matayba-guianensis	ACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTC
14AJC-Matayba-guianensis	ACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTC
Matayba-guianensis	ACATGTTTACTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGGTTTAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTC
16AJC-Guazuma-ulmifolia	ACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCCTTGCGCGCTCTACGTC

Guazuma-ulmifolia

ACATGTTTACTTCCATTGTGGGTAATGTATTTGGGTTCAAAGCCCTGCGCGCTCTACGTC

***** ** * * * * * * * * * * * * *

G.crinita

TATATTATTTATATATCTCTAATATTTCTATTTTCAT--TTTC-----ATTTGATTCAA

Ephedranthus-parviflorus

TGGAGGACCTGCGAATTCCTATTTCTTATGTCAAGACTTTCCAGGGTCCGCCCCATGGCA

13AJC-Ephedranthus-parviflorus

TGGAGGACCTGCGAATTCCTATTTCTTATGTCAAGACTTTCCAGGGTCCGCCCCATGGCA

E.boliviensis

TGGAGGACCTGCGAATTCCTATTTCTTATGTCAAGACTTTCCAGGGTCCGCCCCATGGCA

M.domingensis

TAGAGGATCTACGAATCCCTCCCGCGTATTCGAAAACCTTTCCAAGGCCCCCTCACGGCA

06AJC-Matayba-guianensis

TAGAGGATCTACGAATCCCTCCCGCGTATTCGAAAACCTTTCCAAGGCCCCCTCACGGCA

14AJC-Matayba-guianensis

TAGAGGATCTACGAATCCCTCCCGCGTATTCGAAAACCTTTCCAAGGCCCCCTCACGGCA

Matayba-guianensis

TAGAGGATCTACGAATCCCTCCCGCGTATTCGAAAACCTTTCCAAGGCCCCCTCACGGCA

16AJC-Guazuma-ulmifolia

TAGAGGATCTGCGAATCCCTACGGCTTATGTTAAAACCTTTCCAAGGCCCGCTCATGGTA

Guazuma-ulmifolia

TAGAGGATCTGCGAATCCCTACGGCTTATGTTAAAACCTTTCCAAGGCCCGCTCATGGTA

* * * * * ** ** * * * * * * *

G.crinita

AAAAAGTAAGGAATTCTAAACTGGAAAAACAAGGATTGGGTTGCGCCATACATATGAAAG

Ephedranthus-parviflorus

TCCAAGTTGAGAGAGATAAAATTG----AACAAGTATGGCCGTCCCCTATTGGGATGTACT

13AJC-Ephedranthus-parviflorus

TCCAAGTTGAGAGAGATAAAATTG----AACAAGTATGGCCGTCCCCTATTGGGATGTACT

E.boliviensis

TCCAAGTTGAGAGAGATAAAATTG----AACAAGTATGGCCGTCCCCTATTGGGATGTACT

M.domingensis

TCCAAGTTGAGAGAGATAAAATTG----AACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACT

06AJC-Matayba-guianensis

TCCAAGTTGAGAGAGATAAAATTG----AACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACT

14AJC-Matayba-guianensis

TCCAAGTTGAGAGAGATAAAATTG----AACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACT

Matayba-guianensis

TCCAAGTTGAGAGAGATAAAATTG----AACAAGTATGGACGTCCCCTATTGGGATGTACT

16AJC-Guazuma-ulmifolia

TCCAGGTTGAAAGAGATAAAATTG----AACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACT

Guazuma-ulmifolia

TCCAGGTTGAAAGAGATAAAATTG----AACAAGTATGGTCGTCCCCTATTGGGATGTACT

* ** * ***** ** * * * * * * *

G.crinita

AATATAGAATAATGATGTA-----

Ephedranthus-parviflorus

ATTAACCAAAATTGGGGTTATCCGCCAAGAACTACGGTAGGGCGGTTTATGAATGTCTC

13AJC-Ephedranthus-parviflorus	ATTAACCAAAATTGGGGTTATCCGCCAAGAACTACGGTAGGGCGGTTTATGAATGTCTC
E.boliviensis	ATTAACCAAAATTGGGGTTATCCGCCAAGAACTACGGTAGGGCGGTTTATGAATGTCTC
M.domingensis	ATTAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGAACTACG-----
06AJC-Matayba-guianensis	ATTAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGAACTACGGTAGAGCATGTTATGAATGTCTA
14AJC-Matayba-guianensis	ATTAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGAACTACGGTAGAGCATGTTATGAATGTCTA
Matayba-guianensis	ATTAACCTAAATTGGGATTATCTGCTAAGAACTACGGTAGAGCATGTTATGAATGTCTA
16AJC-Guazuma-ulmifolia	ATTAACCTAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTAGAGCTGTTTATGAATGTCTA
Guazuma-ulmifolia	ATTAACCTAAATTGGGGTTATCCGCTAAGAACTACGGTAGAGCTGTTTATGAATGTCTA
	* * * * * *
G.crinita	-----TTTGGCGAATCAAATACCATGGTCTAATAAGGAACCATTCTGATT
Ephedranthus-parviflorus	CGCGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGC
13AJC-Ephedranthus-parviflorus	CGCGGTGGACTTGAT-----
E.boliviensis	CGCGGTGGACTTGATTTTACCAAGGATGATGAGAACGTGAACTCCCAACCATTTATGCGC
M.domingensis	-----
06AJC-Matayba-guianensis	CGTGGTGGACTTGACTT-----
14AJC-Matayba-guianensis	CGTGGTGGACTTGACTTTACCAAAGATGA-----
Matayba-guianensis	CGTGGTGGACTTGACTTTACCAAAGATGATGAGAACGTAACTCCCAACCATTTATGCGT
16AJC-Guazuma-ulmifolia	CGTGGTGGACTTGATTTTACCAAAGACGA-----
Guazuma-ulmifolia	-----

Apêndice D: Alinhamento das sequências do gênero *Casearia* com o marcador *psbA-trnH*.

9AJC-Casearia-javitensis	-----TGTCGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTG
10AJC-Casearia-decandra	-----AAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTG
2AJC-Casearia-praecox	-----TGTTGTCGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
5PRE-Casearia-praecox	-----AATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
4AJC-Casearia-praecox	-----GCTGTTGTCGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
1MOG-Casearia-praecox	CTCTAAACCTAGCTGTTGTCGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT

3AJC-Casearia-praecox	-----CTGTTGTCGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
14ARA-Casearia-sylvestris	-----TGTTGTCGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
15AJC-Casearia-sylvestris	-----CTGTTGTCGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
7CAM-Casearia-sylvestris	-----TGTTGTCGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
1CAM-Casearia-sylvestris	-----TTGTCGAAATTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
1LUI-Casearia-sylvestris	-TCTAAACTAGGCTGTTGTCGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
1CAR-Casearia-sylvestris	-----GCTGTTTGTGCGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
9ARA-Casearia-sylvestris	-----CTGTTGTCGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
Casearia-sylvestris	-----CGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
5CAR-Casearia-sylvestris	-----GAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
13ARA-Casearia-barteri	-----
11AJC-Casearia-arborea	-----GTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCT-----
7AJC-Casearia-arborea	-----GGATAAGACTTCGGTCT-----
12AJC-Casearia-arborea	-----CCTGCCTGTTGTCGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCT-----
8AJC-Casearia-arborea	-----GTTGTCGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCT-----
2ANG-Casearia-sylvestris	-----AAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTTTGTACGGGTTCTT
4MOG-Casearia-sylvestris	-----CAATCGCCAATTTCTTGTTCTA
5CAC-Casearia-sylvestris	-----TTTGTCGAAGTTTCATCTTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
1CAC-Casearia-sylvestris	-----TGTT--GTCGGAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
5AJC-Casearia-praecox	-----GTT--GTCGAAGTTTTATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
6LUI-Casearia-praecox	-----AGTTTC--ATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTTTGTACGGGGTT
5LUI-Casearia-praecox	-----TGTT--GTCGAAGTTTCATCTACAAATGGATAAGACTTCGGTCTTAGTT
9AJC-Casearia-javitensis	TGTACGGGTTTTTGA-----AAAACTAAAAAAGGAGCAATACCAACCCCCCT
10AJC-Casearia-decandra	TGTACGGGTTCTTGAAAACTAAAAGACTAAAAGTAAAAAAGAGCAATCGCCAATTTCTT
2AJC-Casearia-praecox	TGTACGGG-----TTCTTGAAAACTAAAAAAGGAGCAATCGCCAATTT--C
5PRE-Casearia-praecox	TGTACGGG-----TTCTTGAAAACTAAAAAAGGAGCAATCGCCAATTT--C
4AJC-Casearia-praecox	TGTACGGG-----TTCTTGAAAACTAAAAAAGGAGCAATCGCCAATTT--C

1MOG-Casearia-praecox	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAGGAGCAATCGCCAATTT--C
3AJC-Casearia-praecox	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAGGAGCAATCGCCAATTT--C
14ARA-Casearia-sylvestris	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAGGAGGCAATACCAACCCTG
15AJC-Casearia-sylvestris	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAG--GAGCAATACCAACCCTG
7CAM-Casearia-sylvestris	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAG--GAGCAATACCAACCCTG
1CAM-Casearia-sylvestris	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAG--GAGCAATACCAACCCTG
1LUI-Casearia-sylvestris	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAGG-AGCA-ATACCAACCCTG
1CAR-Casearia-sylvestris	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAGG-AGCA-ATACCAACCCTG
9ARA-Casearia-sylvestris	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAGG-AGCA-ATACCAACCCTG
Casearia-sylvestris	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAGG-AGCAATCGCCAACCATA
5CAR-Casearia-sylvestris	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAGG-AGCAATCGCCAACCATA
13ARA-Casearia-barteri	-----
11AJC-Casearia-arborea	-TAGTGTG-----TACGGGTTCTTGAAAAAAGGAGCAATCGCCAATTTCTT
7AJC-Casearia-arborea	-TAGTGTG-----TACGGGTTCTTGAAAAAAGGAGCAATCGCCAATTTCTT
12AJC-Casearia-arborea	-TAGTGTG-----TACGGGTTCTTGAAAAAAGGAGCAATCGCCAATTTCTT
8AJC-Casearia-arborea	-TAGTGTG-----TACGGGTTCTTGAAAAAAGGAGCAATCGCCAATTTCTT
2ANG-Casearia-sylvestris	GCAAAAAC-----TAAAAAAGG-----AGCCAATCGCCAATTTCTT
4MOG-Casearia-sylvestris	TCAGGGTG-----GAATTGCTCCTTTTTTTAGTTT-----
5CAC-Casearia-sylvestris	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAGGAGCAATCGCCAATTTCTT
1CAC-Casearia-sylvestris	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAGGAGCAATCGCCAATTTCTT
5AJC-Casearia-praecox	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAGGAGCAATCGCCAATTTCTT
6LUI-Casearia-praecox	TCTTGAAA-----AACTT-----TAAAAAAGGAGCAATCGCCAATTTCTT
5LUI-Casearia-praecox	TGTACGGG-----TTCTTGAAAAACTAAAAAAGGAGCAATCGCCAATTTCTT
9AJC-Casearia-javitensis	GATCGAACAAGAAATGGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTAGTTTTAGTCTTTTTTTTT---
10AJC-Casearia-decandra	GTTCTATTAGGGGGTTGGCGATTGCTCCTTTTTTT-----TCTTTTGTTT
2AJC-Casearia-praecox	TTGTTCTATCAGGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTTATTTTGTTT
5PRE-Casearia-praecox	TTGTTCTATCAGGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTTATTTTGTTT

4AJC-Casearia-praecox	TTGTTCTATCAGGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
1MOG-Casearia-praecox	TTGTTCTATCAGGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
3AJC-Casearia-praecox	TTGTTCTATCAGGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
14ARA-Casearia-sylvestris	ATAGAACAAGAAATTGGCGATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
15AJC-Casearia-sylvestris	ATAGAACAAGAAATTGGCGATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
7CAM-Casearia-sylvestris	ATAGAACAAGAAATTGGCGATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
1CAM-Casearia-sylvestris	ATAGAACAAGAAATTGGCGATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
1LUI-Casearia-sylvestris	ATAGAACAAGAAATTGGCGATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
1CAR-Casearia-sylvestris	ATAGAACAAGAAATTGGCGATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
9ARA-Casearia-sylvestris	ATAGAACAAGAAATTGGCGATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
Casearia-sylvestris	ATAGAACAAGAAATTGGCGATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
5CAR-Casearia-sylvestris	ATAGAACAAGAAATTGGCGATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
13ARA-Casearia-barteri	-GAACCAAGAAATTTGGCGATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
11AJC-Casearia-arborea	GTTCTATCAGGGGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTTTTT-----
7AJC-Casearia-arborea	GTTCTATCAGGGGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTTTTT-----
12AJC-Casearia-arborea	GTTCTATCAGGGGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTTTTT-----
8AJC-Casearia-arborea	GTTCTATCAGGGGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTTTTT-----
2ANG-Casearia-sylvestris	GTTCTATCA--GGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
4MOG-Casearia-sylvestris	-----TAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
5CAC-Casearia-sylvestris	GTTCTATCA--GGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
1CAC-Casearia-sylvestris	GTTCTATCA--GGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
5AJC-Casearia-praecox	GTTCTATCA--GGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
6LUI-Casearia-praecox	GTTCTATCA--GGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
5LUI-Casearia-praecox	GTTCTATCA--GGGTTGGTATTGCTCCTTTTTTTAGTTTTAGTCTTTTTTCTTTTGTTT
	* **
9AJC-Casearia-javitensis	-----CTATAGAGTCT
10AJC-Casearia-decandra	TTTACTATTTTGTGTTTAC-----
2AJC-Casearia-praecox	TTTACTATTTTGTATTT-----TACTATAGAGTAT

5PRE-Casearia-praecox	TTTACTATTTTGTATTTT-----A-CTATAGAGTAT
4AJC-Casearia-praecox	TTTACTATTTTGTATTTT-----ACCTATAGAGTAT
1MOG-Casearia-praecox	TTTACTATTTTGTATTTT-----AACTATAGAGTAT
3AJC-Casearia-praecox	TTTACTATTTTGTATTTT-----ACT-ATAGAGTAT
14ARA-Casearia-sylvestris	TTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAGTAT-----TAGGG--GCGGATG----
15AJC-Casearia-sylvestris	TTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAGTAT-----TAGGG--GC-----
7CAM-Casearia-sylvestris	TTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAGTAG-----TTTTA--CTATAGAGTAT
1CAM-Casearia-sylvestris	TTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAGTAG-----TTTTA--CTATAGAGTAT
1LUI-Casearia-sylvestris	TTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAG--T-----AGTTTTACTATAGAGTAT
1CAR-Casearia-sylvestris	TTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAG--T-----AGTTTTACTATAGAGTAT
9ARA-Casearia-sylvestris	TTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAG--T-----AGTTTTACTATAGAGTAT
Casearia-sylvestris	TTTACTATTTTGTATTTTACTATAGA--GT-----AGTTTTACTATAGAGTAT
5CAR-Casearia-sylvestris	TTTACTATTTTGTATTTTACTATTAAGAGT-----AGTTTTACTATAGAGTAT
13ARA-Casearia-barteri	TTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAGTA-----TTTTTACTATAGATTAT
11AJC-Casearia-arborea	-----TCTTTTGTGTTTTACTATTTTGTGTTTTACTATATAGTATTTTACTATATAGTAT
7AJC-Casearia-arborea	-----TCTTTTGTGTTTTACTATTTTGTGTTTTACTATATAGTATTTTACTATATAGTAT
12AJC-Casearia-arborea	-----TCTTTTGGGTTTTACTATTTTGTGTTTTACTATATAGTATTTTACTATATAGTAT
8AJC-Casearia-arborea	-----TCTTTTGTGTTTTACTATTTTGTGTTTTACTATATAGTATTTTACTATATAGTAT
2ANG-Casearia-sylvestris	TTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAGTAGTTTTA-----CTATAGAGTAT
4MOG-Casearia-sylvestris	TTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAGTAGTTTTCA-----CTATAGAGTAT
5CAC-Casearia-sylvestris	TTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAGTAGTTTTA-----CTATAGAGTAT
1CAC-Casearia-sylvestris	TTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAGTAGTTTTA-----CTATAGAGTAT
5AJC-Casearia-praecox	TTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAGTAGTTTTA-----CTATAGAGTAT
6LUI-Casearia-praecox	TTTACTATTTTGTATTTTACTATTTTGTATTTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAGTAT
5LUI-Casearia-praecox	TTTACTATTTTGTATTTTACTATTTTGTATTTTACTATTTTGTATTTTACTATAGAGTAT
9AJC-Casearia-javitensis	TAGGGGCG-----
10AJC-Casearia-decandra	-----

2AJC-Casearia-praecox	TAGGGGC-----
5PRE-Casearia-praecox	TAGGGGCGGATGTAGCCAAG-----
4AJC-Casearia-praecox	TAGGGGCGGATGTAGCCAAGTGGATCA-----
1MOG-Casearia-praecox	TAGGGGCGGATGTAGCCAAGTG-----
3AJC-Casearia-praecox	TAGGGGCGGAT-----
14ARA-Casearia-sylvestris	-----
15AJC-Casearia-sylvestris	-----GGATGTAGCCAA-----
7CAM-Casearia-sylvestris	TAGGGGCGGATGTAGCCAAGTGGATCAAGGCAGTGGATTGTGAATCCACCATGCGCGA
1CAM-Casearia-sylvestris	TAGGGGCGGATGTAGCCAA-----
1LUI-Casearia-sylvestris	TAGGGGCGGATG-----
1CAR-Casearia-sylvestris	TAGGGGCGGATG-----
9ARA-Casearia-sylvestris	TAGGGGCGGATGTA-----
Casearia-sylvestris	TAGGGGCGGATGTA-----
5CAR-Casearia-sylvestris	TAGGGGCGGAT-----
13ARA-Casearia-barteri	TAGGGGCAGATGTAGCCAAGAGGATCAAGCCACTGGATTGGAAATCCACCATGCGCGA
11AJC-Casearia-arborea	TAGGGGCGGA-----
7AJC-Casearia-arborea	TAGGGG-----
12AJC-Casearia-arborea	TAGGGG-----
8AJC-Casearia-arborea	T-----
2ANG-Casearia-sylvestris	TAGGGGCGGATGTAGCCAAGTGGATCAAGGCAGTGGATTGTGAATCCACCATGCGCGA
4MOG-Casearia-sylvestris	TAGGGGCGGATGTAGCCAAGTGGATCAAGGCAGTGGATTGTGAATCCACCATGCGCGA
5CAC-Casearia-sylvestris	TAGGGGCGGATGTAGCCAAGTGGATCAAGGCAGTGGATTGTGAATCCACCATGCGCGA
1CAC-Casearia-sylvestris	TAGGGGCGGAT-----
5AJC-Casearia-praecox	TAGGGGCGGA-----
6LUI-Casearia-praecox	TAGGG-----
5LUI-Casearia-praecox	TAGGGGCGGATGTAGCCAAGTGGATCAAGGCAGTGGATTGTGAATCCACCATGCGCGA

Apêndice E: Alinhamento das sequências dos gêneros *Senna* e *Lantana* com o marcador *psbA-trnH*.

Lantana-camara	AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAT-TA
01Lippia-Lantana-camara	-----CCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGACAT-TA
02Senna-Caesalpinia-eristachys	-----CCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAT-TA
01Senna-Caesalpinia-eristachys	AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAT-TA
Cassia-grandis	AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAA-TA
04Senna-Cassia-javanica	-ATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAA-TA
Senna-alata	AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAT-TA
Senna-occidentalis	AATTGCAGAATCCCGGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAC-TA
Senna-auriculata	AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAC-TA
Senna-obtusifolia	AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAC-TA
03Senna-Senna-tora	-ATTGCAGGATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCACTTA
	*** ****

Lantana-camara	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCGCCCCACTCCCCCTCTCCCCA
01Lippia-Lantana-camara	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCTCGCATCGCGTCGCCCCCTCTCCCGCTCCCCA
02Senna-Caesalpinia-eristachys	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACACATCGTTGCCCTTCCCGCATCGGCCCCCGT
01Senna-Caesalpinia-eristachys	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACACATCGTTGCCCTTCCCGCATCGGCCCCCGT
Cassia-grandis	GGCCGAGGGCACGCTGCCTGGGCGTCACACAACGTTGCCCCCAAGCAACCCACGAGG
04Senna-Cassia-javanica	GGCCGAGGGTACGCTGCCTGGGCGTCACACAACGTTGCCCCCAAGCAACCCACGAGG
Senna-alata	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACGCATCGTTGCCCCAAAACCCTGTCGTCCCTC
Senna-occidentalis	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACGCATCGTTGCCCCAAA-CCACGTGTCCTC
Senna-auriculata	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACGCATCGTTGCCCCAAA-CCACGTGTCCTC
Senna-obtusifolia	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACGCATCGTAGCCCCAAG-CCACGTCCACCCC
03Senna-Senna-tora	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACGCATCGTATCCCCAAA-CCACATGTCCTC
	***** *** ***** ** * * * * * * *

Lantana-camara	TACGGGGACGGG-----CACGAGCGGGCCGGATAATGGCCTCCCGTGCGCCGATAAGT
----------------	--

01Lippia-Lantana-camara	AACGGGGACGGG-----CGTTAGCGGGGCGGATAATGGCCTCCCGTGCAATTCCAGCGC
02Senna-Caesalpinia-eristachys	GGGGGCTCGTGA-----CGGAACGGGCGGATCATGGCCTCCCGTGGGACTCGCCTC
01Senna-Caesalpinia-eristachys	GGGGGCTCGTGA-----CGGAACGGGCGGATCATGGCCTCCCGTGGGACTCGCCTC
Cassia-grandis	G-----AGGCGGGGCGAAGCTGGCCTCCCGTGAGCACGGCCTC
04Senna-Cassia-javanica	G-----AGGCGGGGCGAAGCTGGCCTCCCGTGAGCACGGCCTC
Senna-alata	CGGTCAATCGGAGGCGGCGAGGTGCTTGGGCGGAAGCTGGCCTCCCGTGAGCATTGCCTT
Senna-occidentalis	CGGTATGTCGGAGCGGGCGAGGTGCTTGGGCGGAAGTTGGCCTCCCGTGAGCAATGCCTC
Senna-auriculata	CGGTCTGTGCGAGCGGGCGAGGTGGTTGGGCGGAGGTTGGCCTCCCGTGAGCCCTGCCT
Senna-obtusifolia	CGATTGATCAGGGGCGACGAGGTGCTTGGGGGAATTTGGCCTCCCGTGATCCGTGCATT
03Senna-Senna-tora	CGATCGGTGCGGGGCGGCGAGGTGCTTGGGGGAAAGTTGGCCTCCCGTGAGCCGTGTCTT
	** * *****
 Lantana-camara	 GCGCGGTTGGCCCAAATGCGATCCCTCGGCGACGCACGTACGACCTTTGGTGGTTGAAC
01Lippia-Lantana-camara	GCGCGGCGCATAT--GCGATCCCCCTCGGAGACGCCCCGACACGCCCAGGGGCGGATGCTC
02Senna-Caesalpinia-eristachys	GCGGTTGGTCGAAAAACGAGCCCCCG--GTGGCGGGCGCCACGCTCCTCGGTGGATGAGT
01Senna-Caesalpinia-eristachys	GCGGTTGGTCGAAAAACGAGCCCCCG--GTGGCGGGCGCCACGCTCCTCGGTGGATGAGT
Cassia-grandis	GCGGATGGCTGA-AAGACGAGCCTGTGGGGAGCGAACACCACGTTCCACGGTGGATGAGC
04Senna-Cassia-javanica	GCGGATGGCTGA-AAGACGAGCCTGTGGGGAGCGAACACCACGTTCCACGGTGGATGAGC
Senna-alata	GCGGATGGCC-GAAATTAGAGCCTGTGAGGGGCAATCGCCACGTTCCACGGTGGTTGAGC
Senna-occidentalis	GTGGATGGTTGAAAAAGGAGCCTGTGGGGGGGCGACCGCCACGTTCCACGGTGGATGAGC
Senna-auriculata	CGCGGATGGTTGTAAATGGAGCCTGTGGGGGGGCGACCGCCATGTTCCACGGTGGATGAGC
Senna-obtusifolia	GCGGATGGCCGA-AAAAGGAGCCTGTGCGGGGCAATCGCCACGTTCCACGGTGGATGAGC
03Senna-Senna-tora	GCGGATGGTCGA-AAAAGGTGCCTGCGGGGGCAGT-GGCCACGT-----
	* ** *
 Lantana-camara	 AC-----TCAACTCGCGCAACTGTCGTGCGACGGCGTCGTCCGCTCGGGA
01Lippia-Lantana-camara	TCTCGTCTCTCTCGACTGTGGTGAGGAGGCCCGCTGAACTCGGAAATCCAAAA-----G
02Senna-Caesalpinia-eristachys	GTAACGATACCG-----GTCGTGCGCGCGTCGTCCCCTC-----GGGGGGGCTACGA-
01Senna-Caesalpinia-eristachys	GTAACGATACCG-----GTCGTGCGCGCGTCGTCCCCTC-----GGGGGGGCTACGAG

Cassia-grandis	AGAAACTGCCTCGATGCCGATCGTGCGTGAGTCGCATCCCCCCCCA-C-CCGGGCTCCGCG
04Senna-Cassia-javanica	AGAAACTGCCTCGATGCCGATCGTGCGTGAGTCGCATCCCCCCCC-ACCCGGGCTCCGCG
Senna-alata	AGACGCCTCGAGGCCGAC---CGTGCGCGAGTTGTCCCCAC-----GACAAGGCTGCGAG
Senna-occidentalis	GCTAGCCTCGAGACCGAA---CGTGCGCGAGCTGTCCCTCC-----GACTAGGCTGCGAG
Senna-auriculata	AGATGCCTCGAGACCGAC---CGTGCGCGAGTTGTCCCTAC-----GGCTAGGCTGCGAG
Senna-obtusifolia	AGATGCCTCGAGACCGAC---CTTGTGTTGGTTGTCCCTAC-----GGATGGGCTGTCAG
03Senna-Senna-tora	TCCACGGTGGATGAGCAG----ATGTCTCGAGACCGATCGT-----GCGCTGGTTGTCCC

*

Lantana-camara	ATCACA---TACGACTCCGATGGTGCTAGCGYGACCTCCGA---
01Lippia-Lantana-camara	ACCCGA---GGGAGCTTGCCCCTCACACCGCGACCCCGGGTCGGG
02Senna-Caesalpinia-eristachys	-----
01Senna-Caesalpinia-eristachys	ACCCTCGTGCGA----ACGCGCATCCGACGCGACCCCAGGTCA--
Cassia-grandis	ACCC-----TAATTCTCCCAACGCGACCCCAGGTCAGG
04Senna-Cassia-javanica	ACCC-----TAATTCTCCCGACGCGACCCCAG-----
Senna-alata	ACCCTTGCGAGCAAGTAAGTGCTCCCAACGCGACCCCAGGTCAGG
Senna-occidentalis	ACCCTTGCGAGCGAGGAATCGCTCCCAACGCGACCCCAGGTCAGG
Senna-auriculata	ACCCTTGCGAGCGAGGAACGCTCCCAACGCGACCCCAGGTCAGG
Senna-obtusifolia	ACCCTTTGGGAGCG--ACGAAGCTTTCCCGAAGCGAC-----
03Senna-Senna-tora	GACGGTATAGGCTGCCACGCCCTTGGGAGCCATG-----

Apêndice F: Alinhamento das sequências dos gêneros *Guazuma*, *Matayba* e *Ephedranthus* com o marcador *psbA-trnH*.

13AJC-Ephedranthus-parviflorus	-----GTTCCATCTGTAAATGGATAATACTTCAGCGTTAGTCTGAGTGACACGGGTT
Ephedranthus-parviflorus	TGTCGAAGTTCCATCTGTAAATGGATAATACTTCAGCGTTAGTCTGAGTGACACGGGTT
16AJC-Guazuma-ulmifolia	-----TATTGAAGCTCCATCTACAAATGGATAAGACTTTGGTTTTAGTGATACGAGTT

Guazuma-ulmifolia	-----TGAGCTCCATCTACAAATGGATAAGACTTTGGTTTTAGTGTATACGAGTT
Rhysotoechia-bifoliolata	-----TATTGAAGCTCCATCTACAAATGGATAAGATTTTCGATCTTTGTGTATACGAGTT
14AJC-Rhysotoechia-bifoliolata	-----TATTGAAGCTCCATCTACAAATGGATAAGATTTTCGATCTTTGTGTATACGAGTT
6AJC-Rhysotoechia-bifoliolata	-----TTGAAGCTCCATCTACAAATGGATAAGATTTTCGATCTTTGTGTATACGAGTT
	* * * * *
13AJC-Ephedranthus-parviflorus	GTTGAAGGATCAGAT--CAATGCCAACAAC---TTCTATCA-ACATGTTGGCATTGATCT
Ephedranthus-parviflorus	GTTGAAGGATCAGAT--CAATGCCAACAAC---TTCTATCA-ACATGTTGGCATTGATCT
16AJC-Guazuma-ulmifolia	TTTGAATAAAGGAGCAATAACCAATTTCTTGTTCTATCAAGAGTGTTGGTATTGCTCC
Guazuma-ulmifolia	TTTGAATAAAGGAGCAATAACCAATTTCTTGTTCTATCAAGAGTGTTGGTATTGCTCC
Rhysotoechia-bifoliolata	TTTGAATAACGGAACAATGCCGATTCTCTTCCA-----AGAAGTTGGTATTGCTCC
14AJC-Rhysotoechia-bifoliolata	TTTGAATAACGGAACAATGCCGATTCTCTTCCA-----AGAAGTTGGTATTGCTCC
6AJC-Rhysotoechia-bifoliolata	TTTGAATAACGGAACAATGCCGATTCTCTTCCA-----AGAAGTTGGTATTGCTCC
	***** * * * *
13AJC-Ephedranthus-parviflorus	GTTTCGATTCAGTAGTCTTTTATTCAATAAGCATTTAATCCATTGAATAAAGGATTATTTTC
Ephedranthus-parviflorus	GTTTCGATTCAGTAGTCTTTTATTCAATAAGCATTTAATCCATTGAATAAAGGATTATTTTC
16AJC-Guazuma-ulmifolia	TTTAT--TTAGTAGTCTTTCTTTTCTTTA-CATAACATAAGTTTGTTTTTCTTTACTTT
Guazuma-ulmifolia	TTTAT--TTAGTAGTCTTTCTTTTCTTTA-CATAACATAAGTTTGTTTTTCTTTACTTT
Rhysotoechia-bifoliolata	GTTAT--TTATTAGGTTTTTTTT-TTCAAT-TTTTTGATTTTTTATTTAGGTCCTTGTTTT
14AJC-Rhysotoechia-bifoliolata	GTTAT--TTATTAGGTTTTTTTTTCACT-TTTTTGATTTTTTATTTAGGTCCTTGTTTT
6AJC-Rhysotoechia-bifoliolata	GTTAT--TTATTAGGTTTTTTTTTCACT-TTTTTGATTTTTTATTTAGGTCCTTGTTTT
	** * * * *
13AJC-Ephedranthus-parviflorus	TGGTTGGTTCACGATCGAACCGCCTATTTTTGTTCTGTAC--TGATCTGTACTAG-AATT
Ephedranthus-parviflorus	TGGTTGGTTCACGATCGAACCGCCTATTTTTGTTATGTAC--TGATCTGTACTAG-AATT
16AJC-Guazuma-ulmifolia	AACCTTTATTTACATTTACCCTATATAGTTTTTTTACCATAAGAAAAAAGGACTTTTAATG
Guazuma-ulmifolia	AACCTTTATTTACATTTACCCTATATAGTTTTTTTACCATAAGAAAAAAGGACTTTTAATG
Rhysotoechia-bifoliolata	ACTTTT-----TACTTCAACAAAACAAAAAGTATTTTTATGG

[illegible]

05AJC-Uncultured-endophytic-fungus	-----
11AJC-Uncultured-fungus	-----
12AJC-Botryosphaeriales-sp.	-----
09AJC-Scleroramularia-shaanxiensis	-----
13AJC-Ascomycota-sp.	ATTGCGCCCCGTGGTATTCCGGGGGGGCATGCCTGGAATTCGAGCGTCATTTACCCCTCA

10AJC-Zasmidium-rothmanniae	-----
07AJC-Uncultured-Cladosporium	-----
14AJC-Matayba-guianensis	-----
06AJC-Matayba-guianensis	-----
16AJC-Guazuma-ulmifolia	-----
03AJC-Teratosphaeria-nubilosa	-----
02AJC-Fungal-endophyte	-----
08AJC-Calicium-sp.	-----
15AJC-Casearia-glomerata	-----
04AJC-Casearia-velutina	-----
Casearia-glomerata	-----
Casearia-velutina	-----
05AJC-Uncultured-endophytic-fungus	-----
11AJC-Uncultured-fungus	-----
12AJC-Botryosphaeriales-sp.	-----
09AJC-Scleroramularia-shaanxiensis	-----
13AJC-Ascomycota-sp.	AGCCTCGCTTGGTATTGGGCGCCGCGGGTCCCCGCGCGCCTCAAAGCCCCCGGCGGAAC
10AJC-Zasmidium-rothmanniae	-----
07AJC-Uncultured-Cladosporium	-----
14AJC-Matayba-guianensis	-----
06AJC-Matayba-guianensis	-----
16AJC-Guazuma-ulmifolia	-----
03AJC-Teratosphaeria-nubilosa	-----
02AJC-Fungal-endophyte	-----
08AJC-Calicium-sp.	-----
15AJC-Casearia-glomerata	-----
04AJC-Casearia-velutina	-----

Casearia-glomerata	-----
Casearia-velutina	-----
05AJC-Uncultured-endophytic-fungus	-----GATCATCGAATCTTTGAACGCACAT
11AJC-Uncultured-fungus	-----TCATCGAATCTTTGAACGCACAT
12AJC-Botryosphaeriales-sp.	-----CAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACAT
09AJC-Scleroramularia-shaanxiensis	-----TTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTT---TGAACGCACAT
13AJC-Ascomycota-sp.	CCTCCGTCTCCGAACGTTGTGATTCATCATAATCTCTTGACGTCCAATCGAGCTCACCGT
10AJC-Zasmidium-rothmanniae	-----
07AJC-Uncultured-Cladosporium	-----ATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTT--TGA-ACGCACAT
14AJC-Matayba-guianensis	-----
06AJC-Matayba-guianensis	-----AACCATCGAG---TGTTTGGACGCAAGT
16AJC-Guazuma-ulmifolia	-----GAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAG---TCTTTGAACGCAAGT
03AJC-Teratosphaeria-nubilosa	-----AATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAA---TCTTTGAACGCAAAT
02AJC-Fungal-endophyte	-----GGAATGCAGGATCACGTGAATCATCGAA---TCTTTGA-ACGCAAG
08AJC-Calidium-sp.	-----AATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAAC---GCACATTGCGCCCTA
15AJC-Casearia-glomerata	-----TCTTTGAACGCAATTGGCGCCCGCTGCGTAT---TCCGCTGGGG-----
04AJC-Casearia-velutina	-----CCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGC-----CCGCGGCC
Casearia-glomerata	-----AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAG---TCTTTGAACGCAAGT
Casearia-velutina	-----GAATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAG---TCTTTGAACGCAAGT
05AJC-Uncultured-endophytic-fungus	TGCGCCCCCTGGC-----ATTCCGGGGGGGATGCCTGTTCCAGTG-----TTGTTTCA
11AJC-Uncultured-fungus	TGCGCCCTCTGGT-----ATTCCGGGGGGGCATGCCTGTTTCGAGCG-----TCATTACA
12AJC-Botryosphaeriales-sp.	TGCGCCCCCTGGC-----ATTCCGGGGGGGCATGCCTGTTTCGAGCG-----TCATTTCA
09AJC-Scleroramularia-shaanxiensis	TGCGCCCCCTGGT-----ATTCCGGGGGGGCATGCCTGTCCGAGCG-----TCATTTTCG
13AJC-Ascomycota-sp.	TAAACTTTGTAAC-----AGGTTGACC-----
10AJC-Zasmidium-rothmanniae	-----

07AJC-Uncultured-Cladosporium	TGCGCCCCCTGGT-----ATTCCGGGGGGCATGCCTGTTTCGAGCG-----TCATTTCA
14AJC-Matayba-guianensis	-----GTTTGCCTGGGTGTCACGCATCGTTGCC
06AJC-Matayba-guianensis	TGCGCCCCAAGCCTTTAGGCTG--AGCGGCACGTCTGCCTGGGTGTCACGCATCGTTGCC
16AJC-Guazuma-ulmifolia	TGCGCCCCAAGCCACTAGGGCCGAGGGTGCACGTCTGCCTGGGTGTCACGCATCGTCGCC
03AJC-Teratosphaeria-nubilosa	TGC--GGCCCTGTGGTGTTAACCGTAGGGCATGCCTGTTCCAGGA-ACGTGTTTCGCCCC
02AJC-Fungal-endophyte	TTTGCGCCCTTGGCATTCCGACGGGGATGCCTGTTCCAGGGTGT-TTCACCTCTCCGC-
08AJC-Calicium-sp.	TGG-----CATTCCGGCCGGGGGCATGCCTGTTTCGAGCG-TGTTTGCCACTCA-
15AJC-Casearia-glomerata	--CGCCTGTGCCTGGGTGTTATGCG-----TCTTCGC-
04AJC-Casearia-velutina	TACTGGCCTAGGG-CACGTCCGCCTGGGTGTCACGC-----GTCGTCGC-
Casearia-glomerata	TGCGCCCGAGGCC-ACTCGGCCGAGGGCACGTCCGCCTGGG-TGT-CACGCGTCGTCGC-
Casearia-velutina	TGCGCCCGAGGCC-CACTGGCCGAGGGCACGTCCGCCTGGG-TGT-CACGCGTCGTCGC-
05AJC-Uncultured-endophytic-fungus	CCACTCAAGCCT-CGCTTGGTATTGGGGAAC-----GCGGGCCGCCGTGTGCC-TCAAAT
11AJC-Uncultured-fungus	CCTCTCAAGCCT-CGCTTGGTATTGGGGGCC-----GGGGTTCTGCGCGCCT-CCAACT
12AJC-Botryosphaeriales-sp.	CACCCTCAAGCCTCGCTTGGTATTGGGGGTC-----CCGGGCCCCCGCCCGCCGAGGC
09AJC-Scleroramularia-shaanxiensis	ACCCCTCAAGCTCTGCTTGGTGTTGGACGTC-----TTGGGCCTTGACCTCGCGTCGGGG
13AJC-Ascomycota-sp.	-----
10AJC-Zasmidium-rothmanniae	-----
07AJC-Uncultured-Cladosporium	CCACTCAAGCCT-CGCTTGGTATTGGGCGAC-----GCGGTCCCCCCCCCGCC-TCAAAT
14AJC-Matayba-guianensis	CCCTTG-ACCCCGCTCC-TCAAAACAGGTGC-----GGGGACGTGTTGCGGGC-GGATAT
06AJC-Matayba-guianensis	CCCTCA-ACCCCGCTCC-TCAAAACAAGTGC-----GGGGACGTGTTGCGGGC-GGATAT
16AJC-Guazuma-ulmifolia	CCCCTCGCACCCCGCCCCCACACGTGGGGCGCGGAGGTGGGCAGCAGGGGGC-GGACAA
03AJC-Teratosphaeria-nubilosa	TCCAGCCCCTATGGGTTTT-----GGGGGGCATGCGGGCCT-CGAAAT
02AJC-Fungal-endophyte	--CC--TCTATTGGTT-T-----TGGGCAGCGGCCGGGGG-GGATAT
08AJC-Calicium-sp.	AGTC---CAGCTTGGCC-T-----TGGGCGGGGGGGGGGC-GGATAT
15AJC-Casearia-glomerata	CCCA---GAGCCTCC---C-----CTAGGGGGGGCCGGGGC-GGATAT
04AJC-Casearia-velutina	CCCA---GAGCCTCCCC-A-----AG--CGGGGGCCGGGGC-GGATAT
Casearia-glomerata	CCCA---AAGCCCCC-C-A-----AGCGGGGGCCGGGGC-GGATGT

Casearia-velutina	CCCA---AAGCCCCCC-A-----AGCGGGGGCCGGGGGC-GGATGT
05AJC-Uncultured-endophytic-fungus	CGACCGGCTGGATAGTCTG---TGCCCTAAA-----AGGTGGGGAAACTA
11AJC-Uncultured-fungus	GCACCTCTTGAAGCCCTCC---CCCCCGGAAATCTCTTAACATGTGTTTTGTGGAAACTA
12AJC-Botryosphaeriales-sp.	GCGCCCCCTAAAGGTCTTG---CCTCCCAAA--CCCAGCCTCTGAGCGTAATAGAAACAC
09AJC-Scleroramularia-shaanxiensis	CCCACGTCTGAAAA-----TCGT--C-----GGCGGTGAAACTG
13AJC-Ascomycota-sp.	-----
10AJC-Zasmidium-rothmanniae	-----ATTG
07AJC-Uncultured-Cladosporium	CGACCGGGTGGATCTTTCG---CCCCCTCAG--C-----GTTGTGGAAACTA
14AJC-Matayba-guianensis	TGGCCTCCCGTGGAATTCTTATGCTGCGGTTGGCCCAAATACGAGTTCCCGGTAATGGAT
06AJC-Matayba-guianensis	TGGCCTCCCGTGGAATTCTTATGCTGCGGTTGGCCCAAATACGAGTCCCGGTAATGGAT
16AJC-Guazuma-ulmifolia	TGGCCTCCCATGTGCTCCCC-GCTCGCGGTTGGCCCAAAA-TCGAGCCCCTCGGCGACTT
03AJC-Teratosphaeria-nubilosa	TGGCCTCTCACTGCCTCTG--GGTTGCGCCGACCGCCT-CCCAGAGTTCGGGTCACGGTC
02AJC-Fungal-endophyte	TGGCCTATTGCACGGTCAG--GATTGCGGTTGCCCCAAAA-TCGAGTCCCGGCGACGGTC
08AJC-Calicium-sp.	TGTCCTCCCGCGCGCTCCC--GCTCGCGGTTGTCCCAAAAACAGAGACACGGCTGCGGTC
15AJC-Casearia-glomerata	TGGCCTCCCGCACGCTCCG--GCTTGCGGTTGGCCCAAAA-TCGAGTCCCGGCGACGGTC
04AJC-Casearia-velutina	TGGCCTCCCGCACGCTCCG--GCTTGCGGTTGGCCCAAAA-TCGAGTCCCGGCGACGGTC
Casearia-glomerata	TGGCCTCCCGCGCGCTCCC--GCTCGCGGTTGGCCCAAAAATCGAAGTCCCGGCGACGGTC
Casearia-velutina	TGGCCTCCCGCGCGCTCCC--GCTCGCGGTTGGCCCAAAAATCGAAGTCCCGGCGACGGTC
05AJC-Uncultured-endophytic-fungus	TTGGCTAACCGGAGTAGGGGAGGTTAAGACACACAACAACGGGG-CATTTGATGGTCCA
11AJC-Uncultured-fungus	TTCGCTGATGGGTTTGGGTT-----TG-----ACTGATCGCGGTTCTTCTCCTTGAATGA
12AJC-Botryosphaeriales-sp.	CCCGCTCACGGAGGCCCGGGGTCGCCC-----
09AJC-Scleroramularia-shaanxiensis	GTGTCCACCTC-----AA----GCGAACCATTGG-----
13AJC-Ascomycota-sp.	-----
10AJC-Zasmidium-rothmanniae	CAGAATCAGTGAATCATCGAATCTTTG-----AACGCACATTGCGCCCTTTGG
07AJC-Uncultured-Cladosporium	TTCTCTAAAGGGGGTGCGGGCGGCTGCCCCGTAAAAAAAACCCATTTTTAAAGTTGACCT

14AJC-Matayba-guianensis	GCTGCGACGTTTCGGTGGTG-----GAAAATTAAAA-----A
06AJC-Matayba-guianensis	GCTGCGACGTTTCGGTGGTG-----GAAAATTAAAAAACCTCGAGCAAGCGTCGTG
16AJC-Guazuma-ulmifolia	AAGCGCCGCGGCGATCGGT-----GGAAACCTCGCAAG-----AGTGGCCCG
03AJC-Teratosphaeria-nubilosa	GTCCCTCCGAAGGGCGGTT-----GACAGACCCTCGGACACCCCTTTTCCTTGTCGTT
02AJC-Fungal-endophyte	GACACTACGAGCGGTGGGT-----GAGAGACCCTCGCATTTCGGTCGTGATTGTGCCTCG
08AJC-Caliciium-sp.	GCCTCGACGAGGGGTGGTT-----GAGAGACCCTCGAACACGGTCGTGCGCGCGCCCC
15AJC-Casearia-glomerata	GCCACGACGAGCGGTGGTT-----GAGAGACCCTCGGACACGGTCGTGAGCGTGCCTCG
04AJC-Casearia-velutina	GCCACGACGAGCGGTGGTT-----GAGAGACCCTCGGACACGGTCGTGAGCGTGCCTCG
Casearia-glomerata	GCCACGACGAGCGGTGGTT-----GAGAGACCCTCGGACACGGTCGTGCGCGTGCCTCG
Casearia-velutina	GCCACGACGAGCGGTGGTT-----GAGAGACCCTCGGACACGGTCGTGCGCGTGCCTCG
05AJC-Uncultured-endophytic-fungus	CCTGCCGACCGGGCAGGGATACCCGATCAACTTGAGCCTGTTTGCGGACGCTCTGAAATG
11AJC-Uncultured-fungus	A-----AAG---GTGACC-----
12AJC-Botryosphaeriales-sp.	-----
09AJC-Scleroramularia-shaanxiensis	-----
13AJC-Ascomycota-sp.	-----
10AJC-Zasmidium-rothmanniae	TAT-TCCGGGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCCCCCTCACGCCTTGCTTGGGATTG
07AJC-Uncultured-Cladosporium	C----GGAAGAAGAAGGG-----
14AJC-Matayba-guianensis	A----AAAACCTCGAGCAAGCGTCGTGCATA-TGTTGTCGGTTTTAAAGGATCTCTTGAC
06AJC-Matayba-guianensis	C----ATATGTTGTCGGTTTAAAG-----G-ATCTCTTGACCCTTAAGTGTCTCAATTG
16AJC-Guazuma-ulmifolia	C----CGC-----GCGCGCCCGTGGCCTAGT-----
03AJC-Teratosphaeria-nubilosa	G----ACCTCGGTTTCGGGCTCGGGTACCCTCTAAAGTTAGGTTTATCACTCTCTCGAAGG
02AJC-Fungal-endophyte	T----CTCCCTTTTCGGGCTCACGGACCCACGAGCGCCTAATTGCGGACGCTCTCGATTG
08AJC-Caliciium-sp.	G----TTC-----GGATCTCACGGACCCTCGAGCGCCGACGCTCTCGCATGCTGACCTC
15AJC-Casearia-glomerata	T----CGCCCGTTTCGGGCTCACGGACCCTCGAGCGCCGGTTTGCGGACTCTCTCGTTTG
04AJC-Casearia-velutina	T----CGCCCGTTTCGGGCTCACGGACCCTCGAGCGCCGGTTTGCGGACGCTCTCGTTTG
Casearia-glomerata	T----CGCCTGTTTCGGACCTCACGGACCCTCGAGCGCCGGTTTGCGGACGCTCTCGTTTG
Casearia-velutina	T----CGCCTGTTTCGGACCTCACGGACCCTCGAGCGCCGGTTTGCGGACGCTCTCGTTTG

05AJC-Uncultured-endophytic-fungus	CGACCCC-----
11AJC-Uncultured-fungus	-----
12AJC-Botryosphaeriales-sp.	-----
09AJC-Scleroramularia-shaanxiensis	-----
13AJC-Ascomycota-sp.	-----
10AJC-Zasmidium-rothmanniae	GGGCCCCGGGCCCTTCGGGGCCCCCGAGAGTCCCCGCGCGGGACGCGCGTCTCGTAAT
07AJC-Uncultured-Cladosporium	-----
14AJC-Matayba-guianensis	CCTTAAGTGT-----
06AJC-Matayba-guianensis	AGATGCAGCT-----
16AJC-Guazuma-ulmifolia	-----
03AJC-Teratosphaeria-nubilosa	AA----ACCC-----
02AJC-Fungal-endophyte	CA----ACCC-----
08AJC-Calicium-sp.	AG----GATG-----
15AJC-Casearia-glomerata	CG----ACCC-----
04AJC-Casearia-velutina	CG----ACCC-----
Casearia-glomerata	CG----ACCC-----
Casearia-velutina	CG----ACCC-----
05AJC-Uncultured-endophytic-fungus	-----
11AJC-Uncultured-fungus	-----
12AJC-Botryosphaeriales-sp.	-----GCCCCAGCTTAC
09AJC-Scleroramularia-shaanxiensis	-----AGTCTTCGGACTAGCTTGGTGGGTGTGGCGGCAGACCGGCCTCAAATGACCC
13AJC-Ascomycota-sp.	-----
10AJC-Zasmidium-rothmanniae	TCTCGTACAACCTTCCGATTTGGGGGCTGGGGG---TGGTCTTGCCGCCTGACAACCAAC
07AJC-Uncultured-Cladosporium	-----
14AJC-Matayba-guianensis	-----

06AJC-Matayba-guianensis	-----
16AJC-Guazuma-ulmifolia	-----
03AJC-Teratosphaeria-nubilosa	-----
02AJC-Fungal-endophyte	-----
08AJC-Caliciium-sp.	-----
15AJC-Casearia-glomerata	-----
04AJC-Casearia-velutina	-----
Casearia-glomerata	-----
Casearia-velutina	-----
05AJC-Uncultured-endophytic-fungus	-----
11AJC-Uncultured-fungus	-----
12AJC-Botryosphaeriales-sp.	CAACACCTTCAAGGGTGACCTCGGATCAGGTA-----
09AJC-Scleroramularia-shaanxiensis	CTACAACCTCAAGGTTGACCTCGGATCAGG-----
13AJC-Ascomycota-sp.	-----
10AJC-Zasmidium-rothmanniae	CAATTTTTCAATTGTTGACCTCGGATCTCGCGTTGATACCC
07AJC-Uncultured-Cladosporium	-----
14AJC-Matayba-guianensis	-----CT-----
06AJC-Matayba-guianensis	-----CGCATCGCGACC-----
16AJC-Guazuma-ulmifolia	-----
03AJC-Teratosphaeria-nubilosa	-----CAGGTCGGG----
02AJC-Fungal-endophyte	-----CA-----
08AJC-Caliciium-sp.	-----GG-----
15AJC-Casearia-glomerata	-----C-----
04AJC-Casearia-velutina	-----
Casearia-glomerata	-----CAGGTCGGG----
Casearia-velutina	-----CAGGTCGGG----

Apêndice H: Alinhamento das sequências dos gêneros *Senna* e *Lantana* com o marcador *ITS2*.

04Senna-Cassia-grandis	-ATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAA-TA
Cassia-grandis	AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAA-TA
02Senna-Poincianella-pluviosa	-----CCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAT-TA
01Senna-Poincianella-pluviosa	AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAT-TA
Senna-alata	AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAT-TA
Senna-occidentalis	AATTGCAGAATCCCGGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAC-TA
Senna-auriculata	AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAC-TA
03Senna-Senna-gardneri	-ATTGCAGGATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCACTTA
Senna-tora	AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAC-TA
Senna-obtusifolia	AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAC-TA
Lantana-camara	AATTGCAGAATCCCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCAT-TA
01Lippia-Aloysia-triphylla	-----CCGTGAACCATCGAGTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGACAT-TA
	*** ****
04Senna-Cassia-grandis	GGCCGAGGGTACGCCTGCCTGGGCGTCACACAACGTTGCCCCCAAGCAACCCACGAGG
Cassia-grandis	GGCCGAGGGCACGCCTGCCTGGGCGTCACACAACGTTGCCCCCAAGCAACCCACGAGG
02Senna-Poincianella-pluviosa	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACACATCGTTGCCCTTCCCGCATCGGCCCCCGT
01Senna-Poincianella-pluviosa	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACACATCGTTGCCCTTCCCGCATCGGCCCCCGT
Senna-alata	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACGCATCGTTGCCCCAAAACCTGTGTCCTCCTC
Senna-occidentalis	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACGCATCGTTGCCCCAAA-CCACGTGTCCTCCTC
Senna-auriculata	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACGCATCGTTGCCCCAAA-CCACGTGTCCTCCTC
03Senna-Senna-gardneri	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACGCATCGTATCCCCAAA-CCACATCGTCCAC
Senna-tora	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACGCATCGTAGCCCCAAG-CCACGTCCACCCCC
Senna-obtusifolia	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGTGTACGCATCGTAGCCCCAAG-CCACGTCCACCCCC
Lantana-camara	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCACGCATCGCGTCGCCCCACTCCCCCTCTCCCCA
01Lippia-Aloysia-triphylla	GGCCGAGGGCACGTCTGCCTGGGCGTCTGCATCGCGTCGCCCCCTCTCCCGCTCCCCA
	***** **

04Senna-Cassia-grandis	GA-----GGCGGGGCAGAAGCTGGCCTCCCGTGAGCACGGCCTC
Cassia-grandis	GA-----GGCGGGGCAGAAGCTGGCCTCCCGTGAGCACGGCCTC
02Senna-Poincianella-pluviosa	GGGGGCTCGT-----GACGGAACGGGCGGATCATGGCCTCCCGTGGGACTCGCCTC
01Senna-Poincianella-pluviosa	GGGGGCTCGT-----GACGGAACGGGCGGATCATGGCCTCCCGTGGGACTCGCCTC
Senna-alata	CGGTCAATCGGAGGCGGCGAGGTGCTTGGGCGGAAGCTGGCCTCCCGTGAGCATTGCCTT
Senna-occidentalis	CGGTATGTGCGAGCGGGCGAGGTGCTTGGGCGGAAGTTGGCCTCCCGTGAGCAATGCCTC
Senna-auriculata	CGGTCTGTGCGAGCGGGCGAGGTGGTTGGGCGGAGGTTGGCCTCCCGTGAGCCCCTGCCT
03Senna-Senna-gardneri	CGATCGGTGCGGGGCGAGGTGCTTGGGGGAAAGTTGGCCTCCCGTGAGCCGTGTCTT
Senna-tora	CGATTGATCAGGGGCGACGAGGTGCTTGGGGGAATTTGGCCTCCCGTGATCCGTGCATT
Senna-obtusifolia	CGATTGATCAGGGGCGACGAGGTGCTTGGGGGAATTTGGCCTCCCGTGATCCGTGCATT
Lantana-camara	TACGGGGACGGG-----CACGAGCGGGCCGGATAATGGCCTCCCGTGCGCCGATAAGT
01Lippia-Aloysia-triphylla	AACGGGGACGGG-----CGTTAGCGGGGCGGATAATGGCCTCCCGTGCAATCCAGCGC

 ** * *****

04Senna-Cassia-grandis	GCGGATGGCT-GAAAGACGAGCCTGTGGGGAGCGAACACCACGTTCCACGGTGGATGAGC
Cassia-grandis	GCGGATGGCT-GAAAGACGAGCCTGTGGGGAGCGAACACCACGTTCCACGGTGGATGAGC
02Senna-Poincianella-pluviosa	GCGGTTGGTCGAAAAACGAGCCCCCG--GTGGCGGGCGCCACGCTCCTCGGTGGATGAGT
01Senna-Poincianella-pluviosa	GCGGTTGGTCGAAAAACGAGCCCCCG--GTGGCGGGCGCCACGCTCCTCGGTGGATGAGT
Senna-alata	GCGGATGGCC-GAAATTAGAGCCTGTGAGGGGCAATCGCCACGTTCCACGGTGGTTGAGC
Senna-occidentalis	GTGGATGGTTGAAAAAGGAGCCTGTGGGGGGCGACCGCCACGTTCCACGGTGGATGAGC
Senna-auriculata	CGCGGATGGTTGTAAATGGAGCCTGTGGGGGGCGACCGCCATGTTCCACGGTGGATGAGC
03Senna-Senna-gardneri	GCGGATGGTC-GAAAAAGGTGCCTGCGGGGGCAGT-GGCCACGT-----
Senna-tora	GCGGATGGCC-GAAAAAGGAGCCTGTGCGGGGCAATCGCCACGTTCCACGGTGGATGAGC
Senna-obtusifolia	GCGGATGGCC-GAAAAAGGAGCCTGTGCGGGGCAATCGCCACGTTCCACGGTGGATGAGC
Lantana-camara	GCGCGGTTGGCCCAAATGCGATCCCTCGGCGACGCACGTACGACCTTTGGTGGTTGAAC
01Lippia-Aloysia-triphylla	GCGCGGCGCATA--TGCGATCCCCCTCGGAGACGCCCCGACAGCCAGGGGCGGATGCTC

 * ** *

04Senna-Cassia-grandis	AGAAACTGCCTCGATGCCGATCGTGCGTGAGTCGCATCCCCCCCCACCC-----GGG
Cassia-grandis	AGAAACTGCCTCGATGCCGATCGTGCGTGAGTCGCATCCCCCCCCAC-CC-----GGG
02Senna-Poincianella-pluviosa	GTAAGTC--GAT---ACCGGTCGTGCGCGCGTCGTCCCCTCGGGGGGG-----
01Senna-Poincianella-pluviosa	GTAAGTC--GAT---ACCGGTCGTGCGCGCGTCGTCCCCTCGGGGGGG-----
Senna-alata	AGACGCCTCGAG---GCCGACCGTGCGCGAGT-----TGTCCCCACGACAAGG
Senna-occidentalis	GCTAGCCTCGAG---ACCGAACGTGCGCGAGC-----TGTCCCTCCGACTAGG
Senna-auriculata	AGATGCCTCGAG---ACCGACCGTGCGCGAGT-----TGTCCCTACGGCTAGG
03Senna-Senna-gardneri	-----TCCACGGTGGATGAGCAGATGTCTCGAGACCGATCGT
Senna-tora	AGATGCCTCGAG---ACCGACCTTGTGTTGGTTGTCCCTACAGA-TGGGCTG-TCAGACC
Senna-obtusifolia	AGATGCCTCGAG---ACCGA-----CCTTGTG-TTGGTTG-TCCCTAC
Lantana-camara	ACTCAACTCGCGCAAC--TGTCGT-----GCGACGGC-GTCG-----TCCG
01Lippia-Aloysia-triphylla	TCTCGTCTCTCTCGAC--TGTGGTGAGGAGGC---CCGCTGAAC-TCGG-----AAAT
04Senna-Cassia-grandis	CTCCGCGACCC-----TAATTCTCCCGACGCGACCCAG-----
Cassia-grandis	CTCCGCGACCC-----TAATTCTCCCAACGCGACCCAGGTCAG-----
02Senna-Poincianella-pluviosa	CTACGA-----
01Senna-Poincianella-pluviosa	CTACGAGACCCTCGTGCG----AACGCGCATCCGACGCGACCCAGGTCA-----
Senna-alata	CTGCGAGACCCTTGCGAGCAAGTAAGTGCTCCCAACGCGACCCAGGTCAG-----
Senna-occidentalis	CTGCGAGACCCTTGCGAGCGAGGAATCGCTCCCAACGCGACCCAGGTCAG-----
Senna-auriculata	CTGCGAGACCCTTGCGAGCGAGGAACGCTCCCAACGCGACCCAGGTCAG-----
03Senna-Senna-gardneri	GCGCTGGTTGTCCCGACG-----GTATAGGCT-GCCACGCCCTTGGGAGCCATG---
Senna-tora	CTTTGGGAGCGAC-GAAG-----CTTTCCCGAAGCGACCCAGGTCAG-----
Senna-obtusifolia	GGATGGGCTGTCTAGACCC-----TT---TGGGAGCGACGAAGCTTTCCCGAAGCGAC
Lantana-camara	CTCGGGAATCACATACGACTCCGATGGT---GCTAGCGYGCACCTCCGA-----
01Lippia-Aloysia-triphylla	CCAAAAGACCCGAGGGAGCTTGCCCCTC---ACACCGCGACCCCGGGTCGG-----