

**CRISTIELLE DE JESUS COSTA**

**ANÁLISE FILOGENÉTICA DE *Atractantha* McCLURE (POACEAE,  
BAMBUSOIDEAE, BAMBUSEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA

MINAS GERAIS - BRASIL

2014

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

C837a  
2014 Costa, Cristielle de Jesus, 1989-  
Análise filogenética de *Atractantha* McClure (Poaceae,  
Bambusoideae, Bambuseae) / Cristielle de Jesus Costa. – Viçosa,  
MG, 2014.  
viii, 37f. : il. ; 29 cm.

Orientador: Ana Paula Santos Gonçalves.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.  
Referências bibliográficas: f.33-37.

1. Bambu. 2. Arthrostylidiinae. 3. Filogenia molecular.  
4. Filogenia morfológica. I. Universidade Federal de Viçosa.  
Departamento de Biologia Vegetal. Programa de Pós-graduação  
em Botânica. II. Título.

CDD 22. ed. 633.58

**CRISTIELLE DE JESUS COSTA**

**ANÁLISE FILOGENÉTICA DE *Atractantha* McCLURE (POACEAE,  
BAMBUSOIDEAE, BAMBUSEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 21 de fevereiro de 2014.

---

Prof<sup>a</sup>. Ana Paula Fortuna Perez

---

Prof<sup>a</sup>. Rita Maria de Carvalho Okano

---

Prof<sup>a</sup>. Ana Paula Santos Gonçalves

(Orientadora)

*À minha família, o maior presente que Deus  
poderia ter me concedido nesta vida...*

*Dedico.*

*Confia no Senhor e faze o bem; habitarás na terra, e verdadeiramente será alimentado.*

*Deleita-te também no Senhor, e ele te concederá o que deseja o teu coração.*

*Entrega o teu caminho ao Senhor, confia nele, e ele tudo fará.*

*E ele fará sobressair a tua justiça como a luz, e o teu juízo como o meio-dia.*

**(Salmo 37: 3-6)**

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a Deus pelo milagre da vida e por renovar diariamente suas forças e fé em mim, sem Tua misericórdia e amor eu nada seria.

A minha família, meus pais, Cida e Luiz, e aos meus irmãos, Milene e Cleiton, de coração lhes agradeço pelo exemplo de honestidade, esforço e empenho, sem vocês eu não seria o que sou hoje; o estímulo, amor, carinho e paciência de vocês foram imprescindíveis para completar essa etapa.

Em especial a minha mãe, ainda não existem palavras que possam expressar a nossa relação e a minha extrema gratidão por seu amor e companheirismo, sempre disposta a me ouvir, aconselhar e me mostrar que para tudo há uma solução. Te amo.

Ao Programa de Pós-Graduação em Botânica, pela oportunidade de continuar aprendendo e aprimorando meus conhecimentos.

Ao CNPq pela bolsa concedida; e ao Projeto Floresta Escola pelo auxílio financeiro indispensáveis à execução deste trabalho.

A todos os professores, que passaram pela minha vida acadêmica e que contribuíram com minha formação.

A minha orientadora, Ana Paula Santos Gonçalves, pela confiança em mim depositada, pela compreensão e por todos os ensinamentos e incentivos ao longo desses dois anos.

Aos membros da banca avaliadora, por aceitarem o convite em contribuir com esse trabalho, em especial a professora Ana Paula Fortuna Perez, que tão gentilmente me auxiliou com o alinhamento das sequências de DNA. Muito obrigada!

Aos professores Luiz Orlando e Wagner Otoni, que me receberam de portas abertas em seus laboratórios; e aos colegas do Lab. de Filogeografia e Biologia Molecular que foram minha bússola neste período de descobrimento, obrigada por serem sempre tão gentis, pacientes e disponíveis.

A todos os colegas e funcionários do Laboratório de Sistemática, ressalvo-me a não citar nomes pelo carinho que tenho por todos, obrigada pela amizade e por todos os momentos compartilhados, que serão para sempre lembrados com muita saudade.

Ao pessoal da salinha da Pós-graduação, Mônica, Ronaldo, Anderson, José Martins, Isla e Lívia, obrigada pela amizade, carinho e companheirismo. Com vocês compartilhei momentos de ansiedade, tensão, esperança e alegria. Livinha, obrigada pelos conselhos, carinho e cuidado fraternal; terei sempre um grande carinho por você!

Em especial, agradeço a Van Terra e ao Eric Hattori, que pacientemente compartilharam comigo seus conhecimentos sobre programas de filogenia, quero que saibam que suas ajudas me foram de grande valia.

A minha companheira de AP., Ceci, conterrânea de Djamas, que ao longo desses dois anos se mostrou amiga e confidente, dando-me palavras de conforto e apoio. Obrigada por aturar minhas loucuras e desesperos, e tornar nossa estadia em Viçosa muito mais prazerosa e familiar.

As minhas grandes amigas, Bruna e Ana Angélica, que mesmo de longe sempre estiveram torcendo por mim, obrigada pelo carinho, estímulo e amizade.

As duas grandes amigas que Viçosa me deu a oportunidade de encontrar, Karla e Fabiene, obrigada por sempre estarem comigo compartilhando as dificuldades e alegrias desta jornada. Caso a vida não nos permita dividir a mesma cidade, ainda assim as levarei em meu coração.

Enfim, a todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a conquista dessa vitória.

## SUMÁRIO

|   |      |
|---|------|
| RESUMO .....  | vii  |
| ABSTRACT .....  | viii |
| 1. INTRODUÇÃO.....  | 1    |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS.....                                    | 5    |
| 2.1 Amostragem dos táxons .....                               | 5    |
| 2.2 Estudos morfológicos .....                                | 7    |
| 2.3 Extração de DNA total .....                               | 9    |
| 2.4 Amplificação e sequenciamento de DNA .....                | 10   |
| 2.5 Edição, montagem e alinhamento das sequências de DNA..... | 13   |
| 2.5 Análises filogenéticas .....                              | 13   |
| 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....                               | 15   |
| 3.1 Filogenia morfológica.....                                | 15   |
| 3.2 Filogenia molecular .....                                 | 21   |
| 3.2.1 Gene <i>ndhF</i> .....                                  | 21   |
| 3.2.2 Espaçador intergênico trnD-trnT .....                   | 23   |
| 3.2.3 Espaçador intergênico trnT-trnL .....                   | 25   |
| 3.2.3 Análise dos dados combinados.....                       | 28   |
| 4. CONCLUSÕES .....   | 33   |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                           | 34   |

## RESUMO

COSTA, Crislielle de Jesus, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2014. **Análise filogenética do gênero *Atractantha* McClure (Poaceae, Bambusoideae, Bambuseae)**. Orientadora: Ana Paula Santos Gonçalves.

*Atractantha* McClure é um pequeno gênero de bambus lignificados pertencentes à subtribo Arthrostylidiinae (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae), a qual compreende 13 gêneros. São conhecidas seis espécies descritas, quatro delas endêmicas do estado da Bahia, uma espécie amazônica e a última recentemente descrita para o estado do Espírito Santo. As espécies de *Atractantha* podem ser reconhecidas vegetativamente por apresentarem colmo delgado, sólido a oco, com pequenos canais de ar periféricos presentes em algumas espécies; complemento de ramo com três ramos principais e fimbrias proeminentes nas folhas do colmo e ramos. O presente trabalho teve por objetivo testar o monofiletismo do gênero *Atractantha* e suas relações de afinidade com os demais gêneros de Arthrostylidiinae, por meio de análises cladísticas de caracteres morfológicos e moleculares. Para tanto, foi delimitada uma amostragem com um total de 29 espécies de Bambuseae. A análise morfológica foi realizada a partir de uma matriz com 45 caracteres vegetativos e reprodutivos. Entretanto, a filogenia morfológica resultou em um cladograma com baixa resolução, cuja topologia foi insuficiente para inferir quaisquer relações de afinidade entre os táxons. Os estudos de filogenia molecular foram realizados com base em três marcadores do DNA cloroplastídico: o gene *ndhF* e os espaçadores intergênicos trnD-trnT e trnT-trnL. As sequências plastidiais foram obtidas a partir de técnicas usuais de biologia molecular e do banco de dados GenBank. Com as sequências alinhadas, foram analisados os marcadores separadamente e em combinação, usando dois métodos de inferência filogenética, máxima parcimônia e Bayesiana, os quais indicaram o monofiletismo das três subtribos amostradas e dos gêneros *Alvimia*, *Merostachys*, *Arthrostylidium*, *Guadua* e *Chusquea*. No entanto, o gênero *Atractantha* mostrou-se parafilético.

## ABSTRACT

COSTA, Crístielle de Jesus, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2014. **Phylogenetic analysis of the genus *Atractantha* McClure (Poaceae, Bambusoideae, Bambuseae)**. Adviser: Ana Paula Santos Gonçalves.

*Atractantha* McClure is a small genus of woody bamboo belonging to subtribe Arthrostylidiinae (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae), comprising 13 genera. Six described species, four of them endemic to the state of Bahia, an Amazonian species and the last recently described for the state of Espírito Santo are known. *Atractantha* species can be recognized vegetatively by presenting slender stem, solid or hollow, with small peripheral air channels present in some species; complement branch with three main branches and prominent fimbriae leaves on stems and branches. The present study aimed to test the monophyly of the genus *Atractantha* and its affinity relationships with other genera of Arthrostylidiinae, through cladistic analyzes of morphological and molecular characters. Therefore, it was bounded sampling with a total of 29 species of Bambuseae. Morphological analysis was performed from a matrix with 45 vegetative and reproductive characters. However, the morphological phylogeny resulted in a cladogram with low resolution, whose topology was insufficient to infer any affinity relationships among taxa. The studies were performed molecular phylogeny based on three DNA markers chloroplast: the *ndhF* gene and intergenic spacers *trnT-trnd* and *trnT-trnL*. The plastid sequences were obtained from standard techniques of molecular biology and the GenBank database. With the aligned sequences, the markers were analyzed separately and in combination, using two methods of phylogenetic inference, maximum parsimony and Bayesian, which indicated the monophyly of the three subtribes and genera sampled *Alvimia*, *Merostachys*, *Arthrostylidium*, *Guadua* and *Chusquea*. However, genus *Atractantha* proved paraphyletic.

## 1. INTRODUÇÃO

Poaceae é uma das maiores famílias de Angiospermas e o grupo de plantas mais importante do ponto de vista econômico, o qual apresenta distribuição pantropical e aproximadamente 10.000 espécies e cerca de 700 gêneros (GPWG, 2001). As gramíneas são facilmente reconhecidas por sua morfologia vegetativa e floral características, e sua monofilia tem sido sustentada tanto por caracteres morfológicos como por dados moleculares (GPWG, 2001). Esta extensa família foi dividida em seis subfamílias por Clayton & Renvoize (1986), cinco por Judd *et al.* (1999) e atualmente são reconhecidas 12 subfamílias pelo GPWG (2001).

A subfamília Bambusoideae Luerss., como tradicionalmente circunscrita, inclui um grupo heterogêneo de gramíneas perenes, rizomatosas, as quais apresentam folhas largas, pseudopecioladas, com clorênquima composto de células invaginantes e fusóides e flores com três lodículas (CALDERÓN & SODERSTROM, 1973; CLARK, *et al.*, 1995; ZHANG & CLARK, 2000). Apresentam ampla distribuição geográfica ocorrendo entre 46° N - 47° S de latitude e em altitudes desde o nível do mar até 4.000 metros, e representam a única linhagem da família a se diversificar e se adaptar a habitats florestais, sendo componentes típicos de florestas tropicais e subtropicais, onde ocorrem associadas à vegetação lenhosa (CALDERÓN & SODERSTROM, 1980; CLARK, 1990; JUDZIEWICZ *et al.*, 1999; ZHANG & CLARK, 2000).

A circunscrição desta subfamília tem sido bastante problemática, e o número de tribos tem variado consideravelmente nas últimas décadas. Soderstrom & Ellis (1987) definiram um "core" Bambusoideae composto por cinco tribos: Anomochloae, Streptochaetae, Buergersiochloae, Olyreae e Bambuseae. Clayton & Renvoize (1986) consideraram esta subfamília composta por 14 tribos, enquanto que Watson & Dallwitz (1992) consideraram-na composta por 15 tribos. Em quase todos os sistemas de classificação produzidos nas últimas décadas o "core" de Soderstrom & Ellis (1987) foi incluído na subfamília Bambusoideae (CLARK *et al.*, 1995). Entretanto, diversos estudos baseados em evidências morfológicas e macromoleculares demonstraram que este "core" é polifilético (CLARK *et al.*, 1995; SORENG & DAVIS, 1995; DUVALL & MORTON, 1996; GPWG, 2001).

De acordo com a circunscrição atual proposta por Sungkaew *et al.* (2009), Bambusoideae compreende as tribos Bambuseae (bambus lignificados de clima tropical), Olyreae (bambus herbáceos) e Arundinarieae (bambus lignificados de clima temperado). Tanto a subfamília como as tribos que a compõe são sustentadas em diversas análises morfológicas e moleculares como táxons monofiléticos (CLARK *et al.*, 1995; GPWG, 2001; SUNGKAEW *et al.*, 2009; KELCHNER & BPG, 2013).

Bambusoideae é representada por aproximadamente 1.400 espécies descritas em 115 gêneros (BPG, 2012). Os bambus são encontrados em todos os continentes, exceto na Europa, em elevações desde o nível do mar até cerca de 4.000 metros de altitude (Figura 1). No mínimo 40% das espécies são endêmicas das Américas, e o Brasil representa o país do Novo Mundo com maior diversidade, apresentando cerca de 34 gêneros e 234 espécies, das quais aproximadamente 83% são endêmicas (KELCHNER & BPG, 2013; FILGUEIRAS & SANTOS-GONÇALVES, 2004).



**Figura 1:** Distribuição mundial de bambus (Poaceae: Bambusoideae).

Fonte: Kelchner & BPG (2013).

Os bambus lignificados tropicais (tribo Bambuseae) formam dois clados principais, os quais apresentam distribuições geográficas distintas e bem demarcadas, os lignificados paleotropicals e os lignificados neotropicais; sendo reconhecidas nesse último sete subtribos (TYRREL *et al.*, 2012; KELCHNER & BPG, 2013).

A tribo Bambuseae é representada por espécies com colmo lignificado, folhas diferenciadas em folhas do colmo e folhas dos ramos, ramificação vegetativa complexa, folhas do colmo com lígula externa e lâmina foliar decídua, floração gregária com ciclos ocorrendo a longos intervalos, flores bissexuais e número básico de cromossomos de  $x=12$

(JUDZIEWICZ *et al.*, 1999; ZHANG & CLARK, 2000; GPWG, 2001). Há registros de bambus com intervalos reprodutivos que variam de 7 a 120 anos, com eventos de floração gregária e monocárpica que levam à produção de sementes em massa e a morte de todas as plantas parentais (KELCHNER & BPG, 2013; NADGAUDA *et al.*, 1990). Devido a esse padrão de floração, os bambus lignificados são geralmente encontrados em sua fase vegetativa, dificultando assim a identificação de suas espécies.

Como definida pelo GPWG (2001), a tribo Bambuseae inclui sete subtribos, dentre as quais *Arthrostylidiinae*, endêmica do Novo Mundo (JUDZIEWICZ *et al.*, 1999). Essa subtribo reúne 13 gêneros e 163 espécies que se caracterizam morfoanatomicamente por um conjunto de caracteres: ocorrência de uma região discolor marginal ("striae") na face abaxial da lâmina foliar das folhas dos ramos; margens da lâmina foliar com diferenças estruturais acentuadas; estômatos ausentes ou pouco numerosos na epiderme adaxial da lâmina foliar; esclerênquima intercostal e nervura mediana da lâmina da folha dos ramos reduzida; presença de papilas refrativas e mesofilo com parênquima invaginante e células fusóides (SODERSTROM & ELLIS, 1987; GPWG, 2001).

*Atractantha* McClure, o gênero aqui estudado, representa um pequeno grupo de bambus lignificados neotropicais, taxonomicamente posicionado na subtribo *Arthrostylidiinae*. *Atractantha* McClure distingue e destaca-se dos demais bambus lignificados do Novo Mundo por serem escandentes, com rizomas do tipo paquimorfo, por apresentarem colmos delgados, sólidos ou ocos, com canais periféricos de ar em algumas espécies; complemento de ramo inerme, com três ramos principais e fimbrias proeminentes nas folhas do colmo e ramos (JUDZIEWICZ, 1992; SANTOS-GONÇALVES *et al.*, 2011).

Como atualmente circunscrito, o gênero compreende seis espécies, uma das quais recentemente descrita por Santos-Gonçalves *et al.* (2011), *Atractantha shepherdiana* Santos-Gonç., Filg. & L.G.Clark, a qual ocorre na região sudeste do Brasil, no estado do Espírito Santo, em formações florestais conhecidas como restinga arbórea. As demais espécies, *A. aureolanata* Judz., *A. cardinalis* Judz., *A. falcata* McClure e *A. radiata* McClure ocorrem ao longo da Costa Atlântica no estado da Bahia (JUDZIEWICZ, 1992). *Atractantha amazonica* Judz. & L.G. Clark ocorre no sudeste da Venezuela e no Estado do Amazonas - Brasil, ocorrendo ao longo do Rio Negro e em florestas inundadas, conhecidas como Igapós (McCLURE, 1973; SODERSTROM & ELLIS, 1987; JUDZIEWICZ *et al.*, 1999; SANTOS-GONÇALVES *et al.*, 2011). Além da distribuição peculiar, *A. amazonica* é a única espécie com espiguetas convencionais, ao passo que as demais espécies apresentam estruturas

reprodutivas conhecidas como pseudoespiguetas em suas inflorescências (JUDZIEWICZ, 1992).

Devido à versatilidade dos bambus, estes têm se tornado um grupo de plantas com grande importância econômica e cultural, sendo utilizados na culinária (broto de bambu, principalmente *Bambusa vulgaris* Schrad. ex J.C. Wendl. e *Dendrocalamus asper* Backer ex K. Heyne), construção civil (*Guadua angustifolia* Kunth), fabricação de instrumentos musicais e utensílios domésticos; no artesanato, paisagismo (*Phyllostachys* Siebold & Zucc.); na produção de carvão, combustível, papel e tecidos; na irrigação e regeneração ambiental, além de múltiplos usos em áreas rurais, inclusive como forrageira (JUDZIEWICZ *et al.*, 1999). Embora os bambus sejam utilizados de diversas formas, ainda assim seu potencial econômico não foi totalmente explorado.

No Brasil, os estudos abordando as Bambusoideae são quase que exclusivamente de cunho florístico e/ou taxonômico (BURMAN & FILGUEIRAS, 1993; SENDULSKY 1995, 1997; FILGUEIRAS, 1988; FILGUEIRAS & PEREIRA, 1998; SANTOS-GONÇALVES, 2000; OLIVEIRA, 2001; SANTOS-GONÇALVES, 2005; SANTOS-GONÇALVES *et al.*, 2011; VIANA, 2010).

Até o momento, os estudos de filogenia existentes não incluíram representantes de *Atractantha* em um senso mais amplo. Assim, há apenas evidências de que este grupo seja monofilético, as quais foram obtidas a partir de trabalhos direcionados à responder questões a nível de subtribo, como a filogenia da subtribo Arthrostylidiinae (TYRREL *et al.*, 2012).

Assim, os principais objetivos do presente estudo foram testar o monofiletismo do gênero *Atractantha* e investigar suas relações de afinidades com os demais gêneros de bambus neotropicais.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Amostragem dos táxons

Um total de 29 espécies de Bambuseae foi analisado, sendo selecionadas de forma a representar a diversidade morfológica existente nesta tribo (Tabela 1). Os táxons amostrados representam todas as subtribos de bambus lenhosos neotropicais: Arthrostylidiinae, Chusqueinae e Guaduinae. Todas as espécies do gênero *Atractantha* foram amostradas para a filogenia molecular, exceto *A. amazonica* e *A. falcata*, que não foram recoletadas e para as quais a extração de DNA a partir de material herborizado não foi bem sucedida. Uma espécie do clado de bambus lenhosos paleotropicais, *Bambusa vulgaris*, foi escolhida como grupo externo baseado nos resultados de estudos anteriores (CLARK *et al.*, 2007; FISHER *et al.*, 2009; KELCHNER & BPG, 2013; TYRREL *et al.*, 2012).

Foi realizada uma excursão na região litorânea da Bahia para coleta de material botânico, visando o reconhecimento das espécies em seu hábitat e também o incremento das coleções. Todas as amostras coletadas foram depositadas no Herbário da Universidade Federal de Viçosa - VIC. Folhas foram armazenadas em sílica gel para preservar as amostras para posterior extração de DNA (CHASE & HILLS, 1991).

**Tabela 1.** Número de acesso do GenBank e voucher das espécies utilizadas para as inferências filogenéticas a partir dos três marcadores do DNA cloroplastídico. Todos os vouchers foram depositados no Herbário VIC. Os taxa que não tiveram sucesso na amplificação de suas regiões são indicados por um traço (-).

| Subtribo   | Táxon   | Acesso GenBank |           |           | Voucher |
|--|---|----------------|-----------|-----------|---------|
|  |   | ndhF           | trnD-trnT | trnT-trnL |         |
| Arthrostylidiinae Soderstr. & R.P. Ellis         | <i>Atractantha amazonica</i> Judz.                              |                |           |           | -       |
|  | <i>Atractantha aureolanata</i> Judz.                            | JQ408536       | JQ408494  | JQ408595  |         |
|  | <i>Atractantha cardinalis</i> Judz.                             | JQ408537       | JQ408635  | JQ408596  |         |
|  | <i>Atractantha falcata</i> McClure                              |                |           |           | -       |
|  | <i>Atractantha radiata</i> McClure                              | JQ408538       | JQ408636  | JQ408597  |         |
|  | <i>Atractantha shepherdiana</i> Santos-Gonçalves, Filg. & Clark |                |           |           | SG 510  |
|  | <i>Actinocladum verticillatum</i> (Nees) McClure ex Soderstr.   | JQ408524       | JQ408623  | JQ408586  |         |
|  | <i>Alvimia auriculata</i> Soderstr. & Londonõ                   | JQ408525       | JQ408624  | JQ408587  |         |
|  | <i>Alvimia gracilis</i> Soderstr. & Londonõ                     | JQ408526       | JQ408625  | JQ408588  |         |
|  | <i>Arthrostylidium cubense</i> Rupr.                            | JQ408529       | JQ408628  | JQ408590  |         |
|  | <i>Arthrostylidium urbanii</i> Pilg.                            | JQ408534       | JQ408632  | JQ408594  |         |
|  | <i>Aulonemia amplissima</i> (Nees) McClure                      | JQ408539       | JQ408637  | JQ408598  |         |
|  | <i>Aulonemia queko</i> Goudot                                   | JQ408543       | JQ408641  | JQ408600  |         |
|  | <i>Aulonemia ulei</i> (Hack.) McClure & L.B. Sm.                | JQ408544       | JQ408642  | JQ408601  |         |
|  | <i>Colantheria cingulata</i> (McClure & L.B. Sm.) McClure       | JQ408545       | JQ408643  | JQ408602  |         |
|  | <i>Colantheria intermedia</i> (McClure & L.B. Sm.) McClure      | -              | JQ408645  | JQ408604  | -       |
|  | <i>Colantheria</i> sp. nov.                                     |                |           |           | SG 566  |
|  | <i>Glaziophyton mirabile</i> Franch.                            | JQ408552       | JQ408650  | JQ408607  |         |
|  | <i>Merostachys ternata</i> Ness                                 | JQ408555       | JQ408653  | JQ408610  |         |
|  | <i>Merostachys</i> sp.  |                |           |           | SG 651  |
| <i>Rhipidocladum harmonicum</i> (Parodi) McClure | JQ408563  | JQ408661       | JQ408615  |           |         |
| Bambusinae J.Presl                               |   |                |           |           |         |
|  | <i>Bambusa vulgaris</i> Schrad. ex J.C. Wendl.                  | FJ643709       | FJ643982  | FJ644133  |         |
| Chusqueinae Soderstr. & R.P. Ellis               |   |                |           |           |         |
|  | <i>Chusquea capituliflora</i> Trin.                             |                |           | SG 620    |         |
|  | <i>Chusquea ramosissima</i> Lindm.                              |                |           | SG 534    |         |
|  | <i>Chusquea</i> sp.   |                |           | SG 652    |         |
| Guaduinae Soderstr. & R.P. Ellis                 |   |                |           |           |         |
|  | <i>Apoclada simplex</i> McClure & L.B. Sm.                      | JQ408527       | JQ408626  | JQ408589  |         |
|  | <i>Eremocaulon aureofimbriatum</i> Soderstr. & Londonõ          | JQ408549       | JQ408647  | -         |         |
|  | <i>Guadua angustifolia</i> Kunth                                | FJ643714       | FJ644003  | FJ644154  |         |
|  | <i>Guadua tagoara</i> (Ness) Kunth                              |                |           |           | SG 605  |

## 2.2 Estudos cladísticos morfológicos

Os caracteres morfológicos foram escolhidos com base em estudos prévios (TYRREL *et al.*, 2012; CLARK *et al.*, 2007) e em peculiaridades aos gêneros amostrados neste trabalho. No total foram selecionados 44 caracteres (Tabela 2), sendo 32 vegetativos e 12 reprodutivos. O estudo foi realizado a partir de exsicatas provenientes dos Herbários IBGE, BHCB, RB, INPA, MBM, SP, VIC e B, consultas à literatura especializada e a base de dados do site GrassBase (CLAYTON *et al.*, 2006).

A matriz de caracteres morfológicos foi elaborada no software Nexus Data Editor 0.5.0 (PAGE, 2001). Tanto os caracteres binários como os multiestados foram tratados como não ordenados. Para os táxons com caracteres inaplicáveis ou não observados, os dados foram lançados como faltantes.

**Tabela 2.** Lista de caracteres e estados de caracteres morfológicos para análise cladística.

---

---

|   |
|---|
| <i>Colmos e nós</i>   |
| 1. Hábito: 0 = ereto e arqueando-se no ápice; 1 = escandente; 2 = ereto; 3 = ereto a escandente; 4 = ereto a decumbente; 5 = decumbente.            |
| 2. Entrenó: 0 = sólido; 1 = oco; 2 = sólido com canais de ar periféricos.   |
| 3. Padrão do comprimento do entrenó: 0 = todos iguais; 1 = L-s-s-s-L; 2 = L-s-s-s-s.  |
| 4. Padrão de ramificação: 0 = intravaginal; 1 = extravaginal; 2 = infravaginal.   |
| 5. Promontório: 0 = ausente; 1 = presente.  |
| 6. Gemas por nó no médio-colmo: 0 = única; 1 = múltiplas.   |
| 7. Forma da gema central: 0 = triangular; 1 = circular.   |
| <i>Folhas do colmo</i>  |
| 8. “Cinto” (Girdle) 0 = ausente; 1 = presente.  |
| 9. Posição da lâmina foliar: 0 = ereta; 1 = reflexa.  |
| 10. Indumento da face abaxial da bainha: 0 = glabro; 1 = tricomas adpressos e escuros presentes; 2 = escabro; 3 = apenas tricomas macios presentes. |
| 11. Fimbrias no ápice da bainha: 0 = ausente; 1 = presente.   |
| 12. Fimbrias: 0 = lisas; 1 = onduladas.   |

---

---

- 
13. Base das fimbrias: 0 = livres; 1 = fundidas.
- 
14. Aurículas: 0 = ausente; 1 = presente.
- 
15. Indumento das aurículas: 0 = glabra; 1 = fimbriada.
- 
16. Cicatriz calosa na base da bainha: 0 = ausente; 1 = presente.
- 
17. Extensão de uma das margens na base da bainha: 0 = ausente; 1 = presente.
- 
18. Lígula interna: 0 = ausente; 1 = presente.
- 
19. Lígula externa: 0 = ausente; 1 = presente.
- 
20. Forma da base do complemento de ramo: 0 = “leque” (fan-shaped); 1 = outros formatos.
- 
21. Dominâncias de ramos no complemento de ramo: 0 = subiguais (sem ramos dominantes); 1 = um ramo dominante; 2 = 2-5 ramos dominantes; 3 = 5-7 ramos dominantes.
- 
22. Espinhos no ramos: 0 = ausente; 1 = presente.
- 

*Folhas dos ramos*

23. Dimorfismo nas folhas dos ramos: 0 = ausente; 1 = presente.
- 
24. Estria marginal na face abaxial da lâmina foliar: 0 = ausente; 1 = presente.
- 
25. Folha tesselada: 0 = ausente; 1 = presente.
- 
26. Lígula interna: 0 = ausente; 1 = presente.
- 
27. Indumento da face abaxial da bainha: 0 = glabro; 1 = piloso.
- 
28. Fimbrias do ápice da bainha: 0 = ausente; 1 = presente.
- 
29. Fimbrias: 0 = lisas; 1 = onduladas.
- 
30. Base das fimbrias: 0 = livres; 1 = fundidas.
- 
31. Aurículas: 0 = ausente; 1 = presente.
- 
32. Indumento das aurículas: 0 = glabro; 1 = fimbriado.
- 

*Sinflorescência*

33. Forma: 0 = panícula; 1 = racemo; 2 = capitada.
- 
34. Número de racemos na sinflorescência: 0 = um; 1 = dois ou mais.
- 
35. Espiguetas secundas: 0 = ausente; 1 = presente.
- 

*Espiguetas*

36. Espiguetas: 0 = convencional; 1 = pseudoespiguetas.
- 
37. Compressão da espiguetas: 0 = arredondada; 1 = lateral; 2 = dorsal.
- 
38. Número de glumas: 0 = ausente; 1 = duas; 2 = uma; 3 = várias; 4 = quatro.
- 
39. Tamanho relativo das glumas: 0 = subiguais; 1 = fortemente desiguais.
- 
40. Número de flósculos férteis por espiguetas: 0 = um; 1 = mais de um flósculo.
-

---

41. Extensão da ráquila: 0 = ausente; 1 = presente.

---

*Flor*

42. Número de estames: 0 = três; 1 = seis; 2 = dois.

---

43. Número de estigmas: 0 = um; 1 = dois; 2 = três.

---

*Fruto*

44. Cariopse: 0 = típica; 1 = nucóide; 2 = bacóide.

---

## **2.3 Estudos cladísticos moleculares**

### **2.3.1 Extração de DNA total**

Para os estudos moleculares foi selecionado um acesso de cada espécie, sendo que sete espécies foram obtidas de folhas estocadas em sílica gel, as demais tiveram suas sequências obtidas diretamente no GenBank (Tabela 1).

O DNA genômico total foi extraído utilizando-se o kit comercial DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Valencia, USA) com protocolo modificado (TRIPLETT & CLARK, 2010) ou segundo Doyle & Doyle (1987), conforme as seguintes modificações:

1. Aproximadamente 50 mg de folhas secas foram maceradas em nitrogênio líquido em almofariz de porcelana até homogeneização. O macerado obtido foi transferido para microtubos do tipo Eppendorf de 2,0 mL, sendo adicionados 800 µL de tampão de extração 2X CTAB pré-aquecido a 65°C (acrescido de 1 µL de β-mercaptoetanol e 20 mg de PVP - polivinilpirrolidona por mL de tampão).
2. Os tubos foram vortexizados e incubados em “banho-maria” a 65°C por 30 minutos, sendo agitados por inversão a cada 10 minutos. Em seguida as amostras foram esfriadas em gelo por 2 minutos.
3. Foram adicionados 750 µL de CIA (clorofórmio/álcool isoamílico 24:1) em cada tubo e misturados por inversão por 50 vezes e procedeu-se a centrifugação por 15 minutos a 10.000 rpm.

4. O sobrenadante foi transferido para um novo tubo de 1,5 mL, com cuidado para evitar a perturbação da interface, e em seguida repetido o passo 3 com o sobrenadante recuperado.
5. O sobrenadante foi cuidadosamente transferido para um novo tubo de 1,5 mL e adicionados 0,7 do seu volume de isopropanol gelado, e misturado por inversão gentilmente por 10 vezes.
6. Os tubos foram mantidos à centrifugação por 15 minutos a 10.000 rpm. O sobrenadante foi descartado.
7. Adicionou-se 1 mL de etanol 70% no tubo contendo o precipitado; em seguida o tubo foi centrifugado por 10 minutos a 10.000 rpm, sendo então descartado o álcool.
8. Repetiu-se o passo anterior usando etanol 90%; após o álcool ter sido descartado o tubo foi mantido aberto e invertido sobre papel toalha para secagem do precipitado em temperatura ambiente.
9. Após a secagem, o precipitado foi ressuspenso em até 50 µL de TE + RNase, ou apenas em água deionizada/autoclavada e armazenado a -20°C.

- **Tampão de extração 2X CTAB:** Pesou-se 2 g de CTAB, 8,18 g de NaCl, 0,74 g de EDTA, 1,57 g de Tris-HCl e 1 g de PVP. Os componentes foram dissolvidos em água deionizada/autoclavada completando o volume para 100 mL. O pH foi ajustado para 8,0.

### 2.3.2 Amplificação e sequenciamento de DNA

O DNA total extraído de cada amostra foi amplificado por meio da reação da polimerase em cadeia (PCR) usando o termociclador C1000 Touch Thermal Cycler (Bio-Rad, Hercules, CA, USA).

Para este trabalho foram utilizadas três regiões do DNA cloroplastídico (cpDNA): o gene *ndhF* e os espaçadores intergênicos *trnD-trnT* e *trnT-trnL*. Tais regiões foram escolhidas por serem amplamente empregadas em estudos filogenéticos com representantes de Bambusoideae (FISHER *et al.*, 2007; TRIPLETT & CLARK, 2010; TYRREL *et al.*, 2012;

KELCHNER & BPG, 2013). As sequências dos primers e os parâmetros utilizados para a amplificação e sequenciamento das três regiões cloroplastídicas encontram-se descritas na tabela 3 (TRIPLETT & CLARK, 2010 modificado).

Cada reação de PCR foi processada utilizando-se um volume final de 30  $\mu\text{L}$ , contendo: 2,5  $\mu\text{L}$  de extrato de DNA; 14,6  $\mu\text{L}$  de água destilada e autoclavada; 1,6  $\mu\text{L}$  de cada primer (concentração de 10  $\mu\text{M}/\mu\text{L}$ ); 3,2  $\mu\text{L}$  de deoxinucleotídeos trifosfatos - dNTPs (solução 2,5  $\mu\text{M}$  de cada dNTP); 2,5  $\mu\text{L}$  de solução tampão 10X PCR; 1,5  $\mu\text{L}$  de magnésio (50 mM); 2,1  $\mu\text{L}$  de solução de albumina de soro bovino - BSA (10mg/ $\mu\text{L}$ ) e 0,4  $\mu\text{L}$  de platinum Taq DNA polimerase (5U/ $\mu\text{L}$ ). Todos os reagentes utilizados foram da marca Invitrogen TM (Life Technologies), exceto o BSA (Promega, Biotech).

Para a confirmação da amplificação, foi realizada uma corrida eletroforética com voltagem constante de 90V por 30-40 min, onde 5  $\mu\text{L}$  da reação foram aplicados juntamente com 2  $\mu\text{L}$  de tampão de carregamento e analisados por eletroforese em gel de agarose 1% e tampão TBE 1X. Os fragmentos foram visualizados e comparados com o marcador molecular 1 Kb Plus DNA Ladder (Invitrogen TM, Life Technologies) em um transluminador de ultravioleta (Loccus Biotecnologia).

A purificação do produto da PCR foi realizada com ExoSAP-IT (Affymetrix, Inc.) utilizando as enzimas fosfatase alcalina de camarão (SAP) e exonuclease I (EXO), conforme instruções do fabricante.

Após a purificação, as concentrações dos produtos de PCR foram estimadas utilizando-se como referência o marcador de massa molecular Low DNA Mass Ladder (Invitrogen TM, Life Technologies) e analisados por eletroforese em gel de agarose. Em seguida, as amostras foram enviadas para sequenciamento na Macrogen (Coréia do Sul).

**Tabela 3.** Primers do DNA cloroplastídico e parâmetros utilizados para as reações de amplificação e sequenciamento baseados em Tyrrel & Clark (2010). Asterisco (\*) indicam parâmetros de PCR modificados para este estudo. SEQ indica primers usados para reações de sequenciamento que diferem daqueles de reações de PCR.

| <b>Regiões</b>   | <b>Sequência do primer (5'-3')</b>   | <b>Parâmetros das reações de PCR</b>  |
|------------------|--|---|
| <i>ndhF</i>      | 972F: GTCTCAATTGGGTTATATGATG<br>2110R: CCCCTAYATATTTGATACCTTCTCC<br>SEQ: 1318F: GATTA ACTGCGTTTTATATGTTTCG<br>1603R: GCATAGTATTTCCCGTTTCATGAGG | *94°C, 1 min; 30x (94°C, 1 min 30 sec; 54°C, 2 min; 72 °C, 3 min); 72°C, 10 min.          |
| <i>trnD-trnT</i> | trnD-for: ACCAATTGAACTACAATCCC<br>trnT-rev: CCCTTTTAACTCAGTGGTA<br>SEQ: trnY-rev: CTCTTTGCTTTGGATCTAG<br>trnE-for: GCCTCCTTGAAAGAGAGATG        | *94°C, 2 min; 35x (94°C, 45 sec; 58°C, 1 min; 72 °C, 1 min 15 sec); 72°C, 5 min.          |
| <i>trnT-trnL</i> | trnT-L F: CATTACAAATGCGATGCTCT<br>trnT-L R: TCTACCGATTTTCGCCATATC  | 95°C, 2 min; 35x (95°C, 1 min; 48°C, 10 sec; +17°C, 0.3°C/sec; 65°C, 5 min); 65°C, 5 min. |

### 2.3.3 Edição, montagem e alinhamento das sequências de DNA

As sequências de DNA foram editadas e montadas utilizando-se o programa Sequencher 4.1.4 (Gene Codes Corporation). As sequências de todas as espécies foram então alinhadas pelo programa Muscle versão 3.6 e posteriormente alinhadas manualmente no programa BioEdit Sequence Alignment Editor versão 7.2.3 (HALL, 1999).

## 2.4 Análises filogenéticas

Tanto para análise de Máxima Parcimônia quanto para a Inferência Bayesiana, os dados foram analisados individualmente, por loci, e em conjunto para averiguar a ocorrência de possíveis incongruências entre as árvores geradas.

Análises de máxima parcimônia, tanto para os dados morfológicos como para os moleculares foram conduzidas no programa PAUP versão 4.0b10 (SWOFFORD, 2002). As análises constituíram de 1.000 replicações utilizando a busca heurística de sequências e o rearranjo de ramos das árvores foi realizado pelo algoritmo TBR (*Tree bisection and reconnection*). Para avaliar o suporte estatístico de cada nó dos cladogramas, valores de *bootstrap* (FELSENSTEIN, 1985) foram estimados a partir de 10.000 réplicas e busca heurística completa. Os níveis de homoplasia e sinapomorfia foram calculados usando índices de consistência (IC), de retenção (IR) e de consistência rescalonado (RC). Os caracteres foram tratados com o mesmo peso e os multiestados não ordenados.

Análises de Inferência Bayesiana foram realizadas usando o programa MrBayes versão 3.1.2 (RONQUIST & HUELSENBECK, 2003). O MrModeltest v.1.1 (POSADA & CRANDALL, 1998) foi utilizado para apontar o modelo evolutivo mais adequado para cada conjunto de dados. O algoritmo Monte Carlo via Cadeia de Markov foi iniciado a partir de uma árvore aleatória e processado por 10.000.000 de gerações, com árvores amostradas a cada 1.000 gerações, sendo que 25% das amostras iniciais (*burn in*) coletadas foram descartadas e as remanescentes foram utilizadas para determinar os valores de probabilidade

posterior (PP). O MrBayes realizou duas análises simultâneas iniciando a partir de diferentes árvores randômicas (Nruns=2), cada uma com quatro cadeias de Markov (Nchains=4).

As árvores de Máxima Parcimônia e Inferência Bayesiana foram visualizadas e editadas no programa FigTree v1.4.0 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 Filogenia morfológica

A análise de máxima parcimônia da matriz dos dados morfológicos obtidos (Tabela 4) resultou em 556 árvores, das quais foi gerada uma árvore de consenso estrito (Figura 2) com 145 passos. Dos 44 caracteres amostrados, 36 foram considerados informativos para a parcimônia. Essa análise apresentou índice de consistência (IC) igual a 0,4, índice de homoplasia (IH) igual a 0,6, índice de retenção (IR) igual a 0,63 e índice rescalonado (RC) igual a 0,25.

O consenso estrito das árvores mais parcimoniosas resultou em uma baixa resolução da filogenia do grupo como um todo, embora grande parte dos dados morfológicos amostrados tenha sido considerado informativo sob o ponto de vista da parcimônia; entretanto poucos cladogramas formados apresentaram alta sustentação na análise de *bootstrap*.

Ressalta-se que, utilizando exclusivamente dados morfológicos, tanto as relações de afinidades entre as três subtribos amostradas (Arthrostylidiinae, Guaduinae e Chusqueinae) quanto entre os gêneros analisados ficaram não resolvidas. Estes resultados evidenciam que o número de caracteres morfológicos amostrados neste trabalho mostrou-se insuficiente para diferenciar tanto categorias taxonômicas superiores quanto inferiores; estudos anteriores de filogenia morfológica da família Poaceae e de Bambusoideae (CLARK *et al.*, 2007; GPWG, 2001), nos quais houve uma amostragem incluindo um maior número de caracteres, proveniente tanto de morfologia externa, quanto de morfoanatomia foliar e anatomia, apresentaram uma resolução moderada, sendo possível a separação das subtribos.

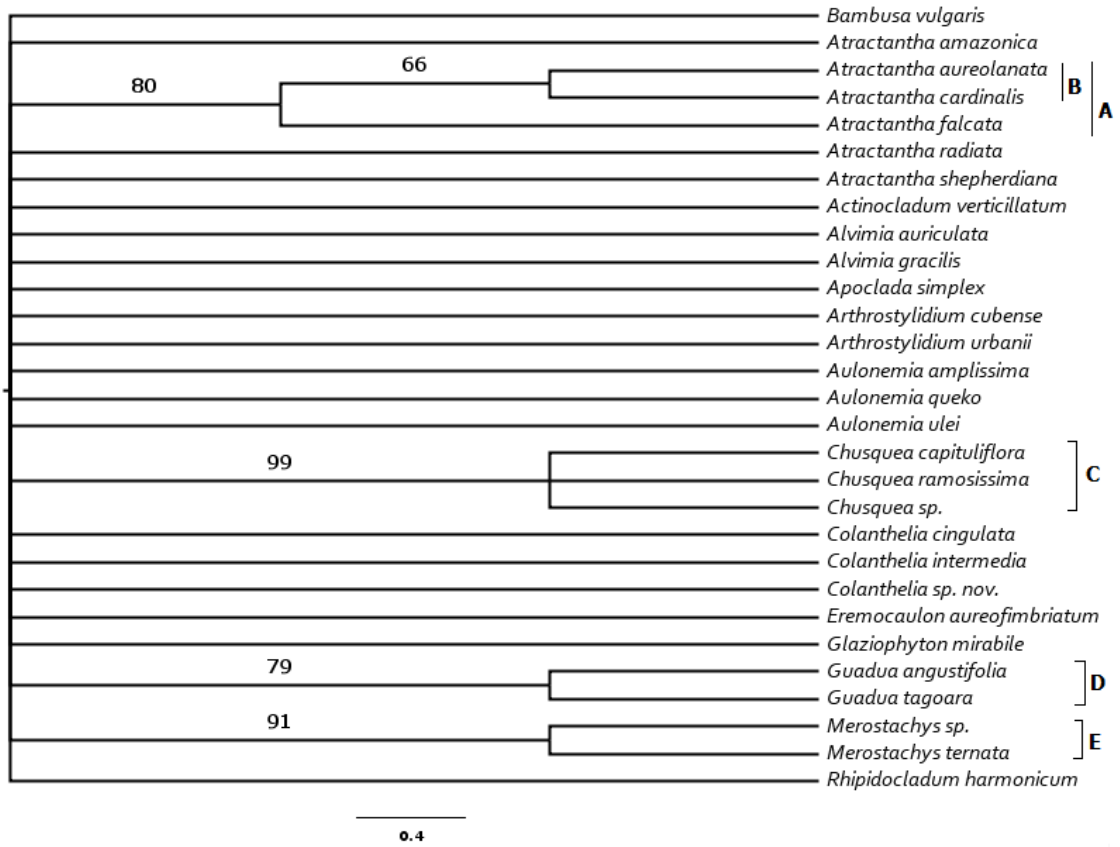
Embora três espécies de *Atractantha*, *A. aureolanata*, *A. cardinalis* e *A. falcata*, tenham se agrupado em um pequeno clado (A) com suporte de *bootstrap* moderado (80%), sendo sustentado principalmente pela presença de fimbrias e de indumento escabroso na face abaxial da bainha das folhas do colmo em todas as três espécies, o gênero mostrou-se não-monofilético.

*Atractantha aureolanata* e *A. cardinalis* formaram um clado (B) fracamente sustentado por valor de *bootstrap* (66%), sendo que a característica presença de cicatriz calosa na base da bainha nas folhas do colmo foi a responsável por unir tais espécies (Figura 2).

O clado C, formado por todas as espécies amostradas de *Chusquea*, *C. capituliflora*, *C. ramosissima* e *Chusquea* sp. foi suportado como monofilético, com alto valor de *bootstrap*, 99%. O clado possui diversas sinapomorfias: padrão de ramificação infravaginal, gemas múltiplas por nó no médio-colmo, gema central do médio-colmo circular, presença de quatro glumas na espiguetta e ausência de extensão da ráquila no flósculo fértil. Atualmente, a monofilia de *Chusquea* é considerada robusta e bem sustentada na maioria das análises morfológicas e moleculares, nas quais as características morfológicas citadas acima são consideradas sinapomorfias para o clado (CLARK *et al.*, 2007; FISHER *et al.*, 2009).

De acordo com os resultados obtidos neste estudo, o gênero *Guadua* é monofilético, com valor de *bootstrap* moderado (79%), tendo as duas espécies agrupadas no clado (D), por apresentarem ramos armados, ou seja, dotados de espinhos.

O clado E, constituído por *Merostachys* mostrou-se monofilético com alto suporte de *bootstrap* (91%), sendo suportado principalmente pela ocorrência de complemento de ramo em forma de leque (“fan-shaped”).



**Figura 2:** Árvore de consenso estrito dos dados morfológicos a partir da Máxima Parcimônia. Os valores de *bootstrap* (> 50%) estão representados nos nós dos ramos.



|                                    |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|------------------------------------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| <i>Aulonemia amplissima</i>        | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | - | - | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |   |
| <i>Aulonemia queko</i>             | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | ? | ? | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | - | - | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |   |
| <i>Aulonemia ulei</i>              | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | - | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 3 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | - | 0 | - | - | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |   |   |
| <i>Bambusa vulgaris</i>            | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | - | - | 1 | 0 | 0 | - | - | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 1 | 0 |   |
| <i>Chusquea capituliflora</i>      | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | - | - | 0 | - | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | - | - | 0 | - | 2 | - | - | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |   |
| <i>Chusquea ramosissima</i>        | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | - | - | 0 | - | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | - | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | ? | 0 |
| <i>Chusquea</i> sp.                | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | - | - | 0 | - | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | - | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 0 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | ? |
| <i>Colanthea cingulata</i>         | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | ? | ? | 1 | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | ? | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | - | - | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |   |
| <i>Colanthea intermedia</i>        | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | ? | ? | 1 | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | 0 | - | - | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 |   |
| <i>Colanthea itatiaiae</i>         | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | ? | ? | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | - | - | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | ? |   |
| <i>Eremocaulon aureofimbriatum</i> | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | ? | ? | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | - | - | 1 | 1 | 3 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 |
| <i>Glaziophyton mirabile</i>       | 1 | 3 | 2 | - | 0 | 0 | ? | - | 0 | 0 | 0 | - | - | 0 | - | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | - | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | 0 | - | - | 0 | 1 | 3 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 |   |
| <i>Guadua angustifolia</i>         | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | ? | ? | 1 | 0 | 3 | 0 | - | - | 0 | - | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | - | - | 0 | - | 2 | - | - | 1 | 0 | 3 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 |   |
| <i>Merostachys</i> sp.             | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | ? | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 |   |

|   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| <i>Merostachys</i><br><i>ternata</i>      | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 |
| <i>Rhipidocladum</i><br><i>harmonicum</i> | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3 | 0 | - | - | 0 | - | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | ? | ? | - | 0 | 1 | 3 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | ? |   |   |   |

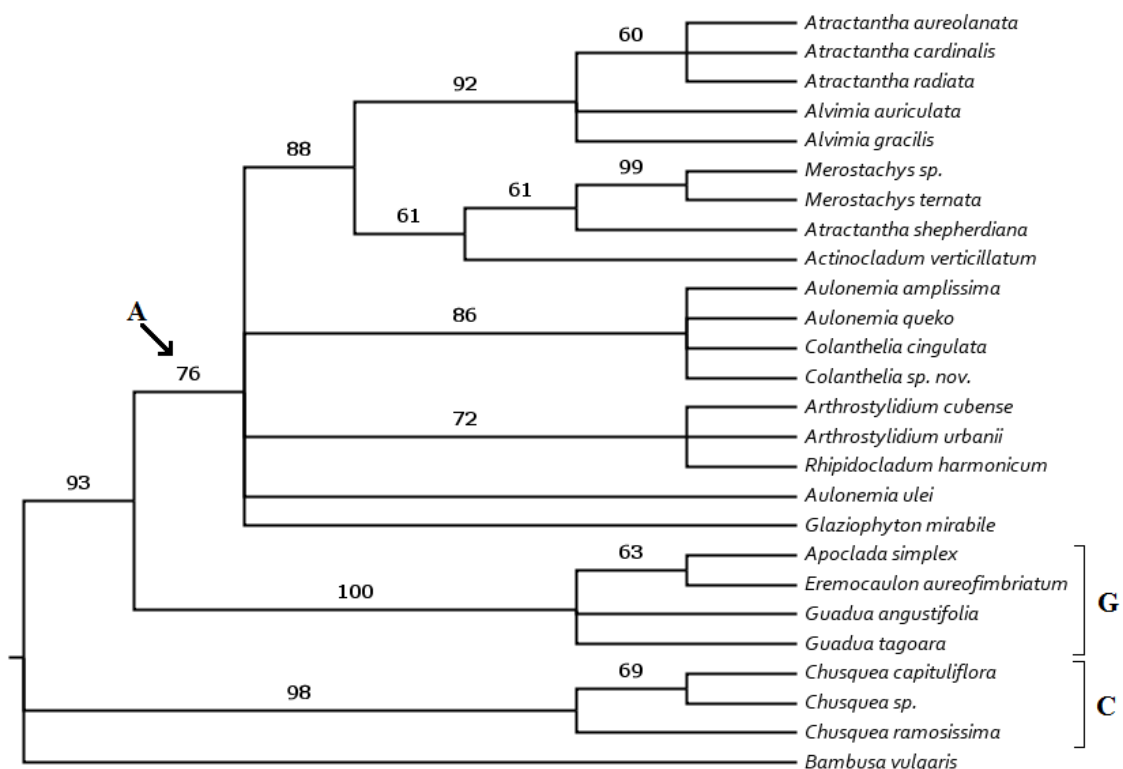
---

## 3.2 Filogenia molecular

### 3.2.1 Gene *ndhF*

A análise de máxima parcimônia do gene *ndhF* resultou em 1.170 caracteres, dos quais apenas 47 foram considerados informativos para a parcimônia. Foram obtidas 35 árvores igualmente parcimoniosas, a partir das quais foi gerada uma árvore de consenso estrito com 124 passos, índice de consistência (IC) igual a 0,82, índice de homoplasia (IH) igual a 0,18, índice de retenção igual (IR) a 0,87 e índice de consistência rescalonado (RC) igual a 0,72 (Tabela 5).

A árvore de consenso estrito apresentou clados com altos valores de *bootstrap*. Os dados do *ndhF* apontam que todas as três subtribos analisadas, Arthrostylidiinae (A), Guaduinae (G) e Chusqueinae (C), são monofiléticas (Figura 3). Sendo que Guaduinae e Chusqueinae foram altamente sustentadas, com *bootstrap* de 100% e 98%, respectivamente.



**Figura 3.** Árvore de consenso estrito do gene *ndhF* a partir da Máxima Parcimônia. Os valores de *bootstrap* (> 50%) estão representados nos nós dos ramos.

Os resultados obtidos nesse estudo apontam que dentro de Arthrostylidiinae, foram registradas várias linhagens moderadamente sustentadas. Parte das espécies de *Atractantha* formou um grupo irmão com o gênero *Alvimia* (clado B), com suporte de 92% de *bootstrap*. No entanto, o gênero *Atractantha* mostrou-se parafilético, visto que *A. shepherdiana* se posicionou em um grupo formado pelas espécies de *Merostachys* e *Actinocladum verticillatum*; porém, tal agrupamento foi fracamente sustentado pelo valor de *bootstrap* (61%).

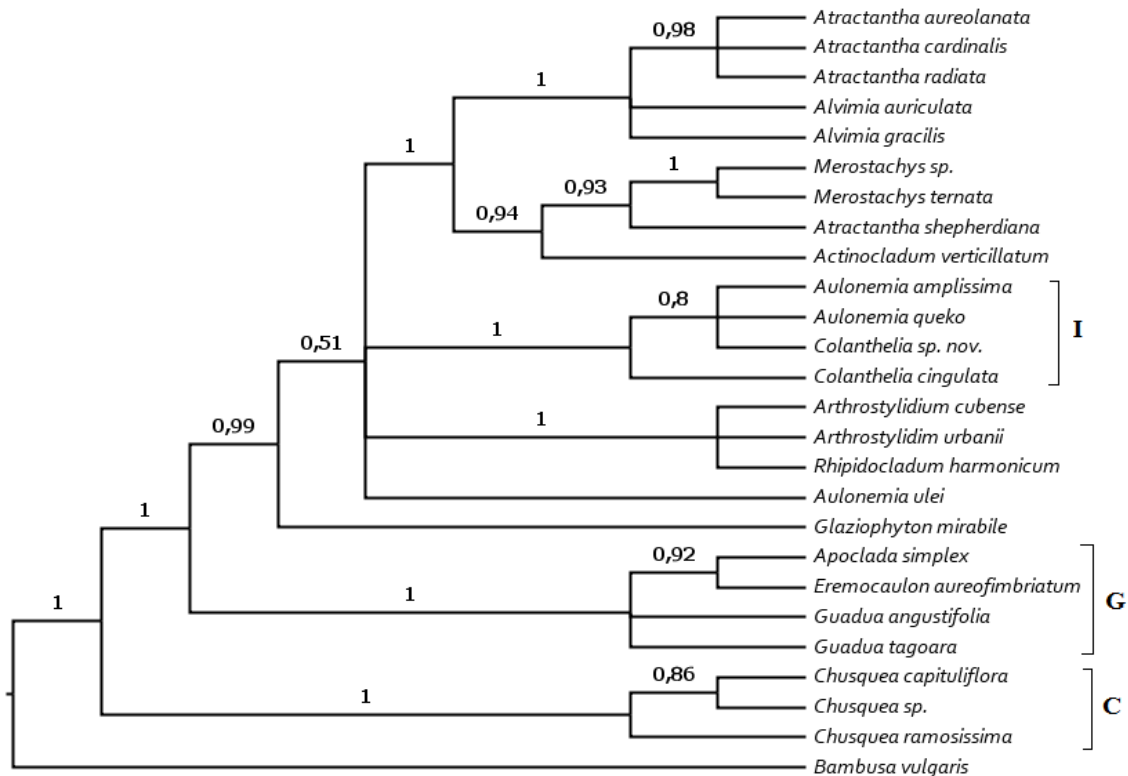
*Merostachys* demonstrou-se monofilético com alto suporte de *bootstrap*, de 99%. Os gêneros *Aulonemia* e *Colantheria*, que são referidos na literatura como supostamente relacionados (TYRREL *et al.* 2012; JUDZIEWICZ *et al.*, 1999), se agruparam em um pequeno clado, com valor de *bootstrap* moderado de 86%.

Embora com baixo valor de *bootstrap* (72%), *Arthrostylidium* e *Rhipidocladum harmonicum* formaram um clado dentro das Arthrostylidiinae. Na base desta subtribo, *Aulonemia ulei* e *Glaziophyton mirabile* aparecem formando uma politomia.

Para proceder a análise de Inferência Bayesiana, o MrModeltest selecionou o modelo de evolução molecular GTR+I+R (*General Time Reversible plus Gamma*) para as sequências do gene *ndhF*, este modelo propõe que cada nucleotídeo tem uma taxa de substituição própria, levando em consideração sua frequência e a discreta distribuição gamma, que prediz que os sítios evoluem diretamente (YANG, 1994) (Tabela 6).

A árvore Bayesiana de consenso de maioria (Figura 4) gerada a partir do gene *ndhF* apresentou praticamente a mesma topologia da Máxima Parcimônia. Assim, as três subtribos de Bambuseae são altamente sustentadas, com probabilidade posterior de 1,00 e 0,99 em Arthrostylidiinae.

Assim como na Máxima Parcimônia, as espécies dos gêneros *Colantheria* e *Aulonemia* (exceto *A. ulei*) se agruparam formando um clado (I), com probabilidade posterior de 1,00. A inferência Bayesiana apresentou maior resolução neste clado, onde *Colantheria* se revela como parafilético, devido ao posicionamento de *Colantheria* sp. nov. com as espécies de *Aulonemia*.



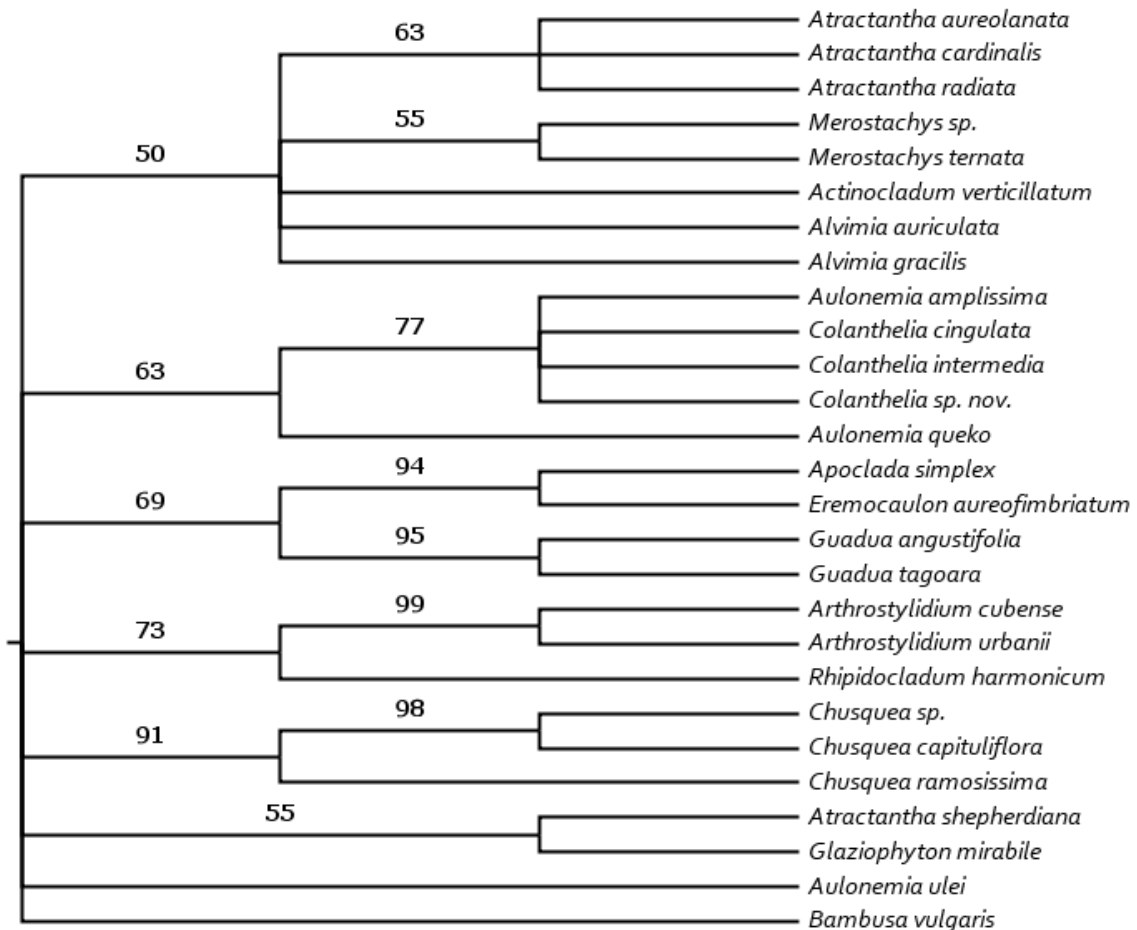
**Figura 4.** Árvore Bayesiana de consenso de maioria do gene *ndhF*. Os valores de probabilidade posterior estão indicados nos nós dos ramos.

### 3.2.2 Espaçador intergênico *trnD-trnT*

A análise de máxima parcimônia do espaçador intergênico *trnD-trnT* resultou em 1.288 caracteres, dos quais apenas 38 foram considerados informativos para a parcimônia. Foram obtidas 40 árvores igualmente parcimoniosas, a partir das quais foi gerada uma árvore de consenso estrito com 120 passos, índice de consistência (IC) igual a 0,9, índice de homoplasia (IH) igual a 0,1, índice de retenção igual (IR) a 0,86 e índice de consistência rescalonado (RC) igual a 0,77 (Tabela 6).

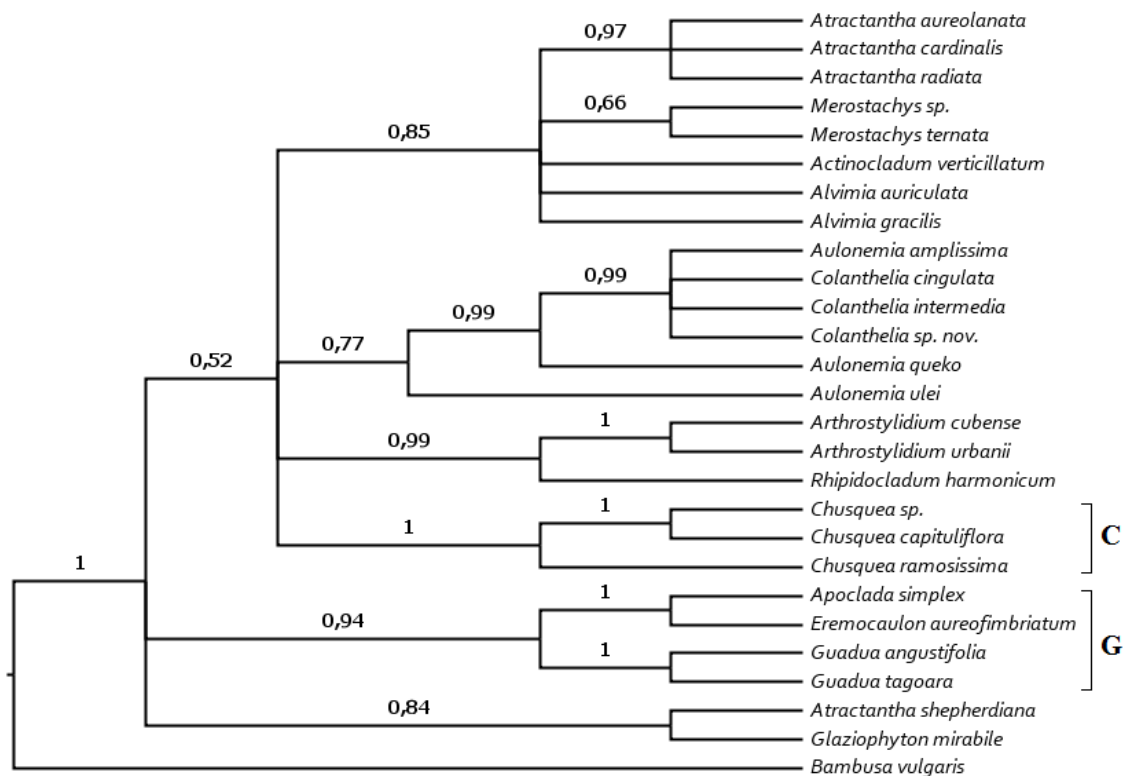
Como pode ser observado na figura 5, a árvore de máxima parcimônia gerada a partir do espaçador intergênico *trnD-trnT* apresentou baixa resolução e apenas as subtribos Guaduinae e Chusqueinae foram sustentadas como grupos monofiléticos, com suporte de *bootstrap* baixo para Guaduinae e alto para Chusqueinae, de 69% e 91%, respectivamente.

Assim como na análise a partir do marcador *ndhF*, *Merostachys* e *Guadua* mantiveram-se como gêneros monofiléticos; e *Arthrostylidium* e *Rhipidocladum* novamente se posicionaram em um mesmo clado, porém a maior resolução apresentada pelo *trnD-trnT* revelou o gênero *Arthrostylidium* como monofilético. Mais uma vez o gênero *Atractantha* mostrou-se parafilético.



**Figura 5.** Árvore de consenso estrito do espaçador intergênico *trnD-trnT* a partir da Máxima Parcimônia. Os valores de *bootstrap* (> 50%) estão representados nos nós dos ramos.

Para a construção da árvore Bayesiana, o modelo considerado mais adequado para o *trnD-trnT* foi o de HKY+G (*Hasegawa-Kishino-Yano plus Gamma*), o qual considera as diferenças entre as taxas de transcrição e transversão, assim como as diferenças quanto ao teor de citosina e guanina (HASEGAWA, KISHINO & YANO, 1985).



**Figura 6.** Árvore Bayesiana de consenso de maioria do espaçador intergênico trnD-trnT. Os valores de probabilidade posterior estão indicados nos nós dos ramos.

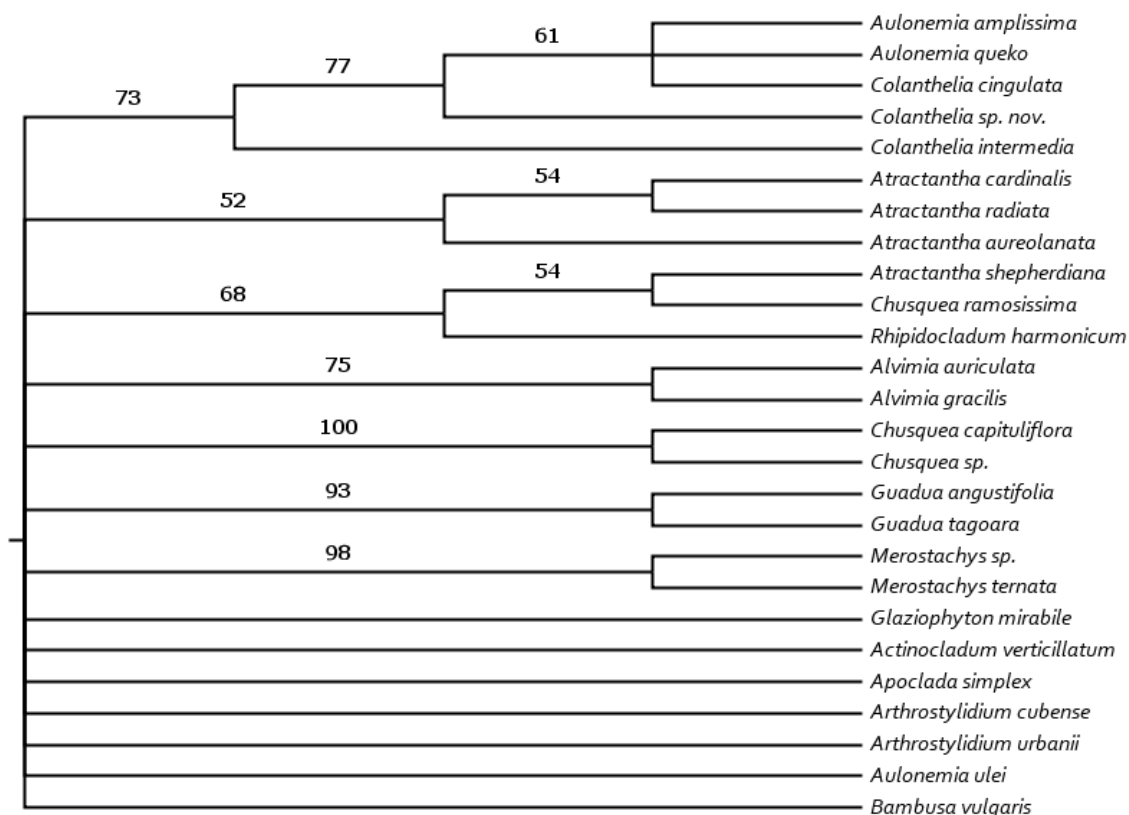
A árvore Bayesiana de consenso gerada a partir do espaçador intergênico trnD-trnT, assim como a obtida pelo método da parcimônia, apresentou apenas duas subtribos monofiléticas, Guaduinae e Chusqueinae, com moderado e alto valor de probabilidade posterior de 0,94 e 1,00, respectivamente (Figura 6).

No entanto, a subtribo Arthrotyliidiinae mostrou-se parafilética, já que *Atractantha shepherdiana* e *Glaziophyton mirabile* se posicionaram externamente ao restante da subtribo.

### 3.2.3 Espaçador intergênico trnT-trnL

A análise de máxima parcimônia do espaçador intergênico trnT-trnL resultou em 839 caracteres, dos quais somente 45 foram considerados informativos para a parcimônia. Foram obtidas 100 árvores igualmente parcimoniosas, a partir das quais foi gerada uma árvore de consenso estrito com 110 passos, índice de consistência (IC) igual a 0,86, índice de

homoplasia (IH) igual a 0,14, índice de retenção igual (IR) a 0,83 e índice de consistência rescalonado (RC) igual a 0,72 (Figura 7).



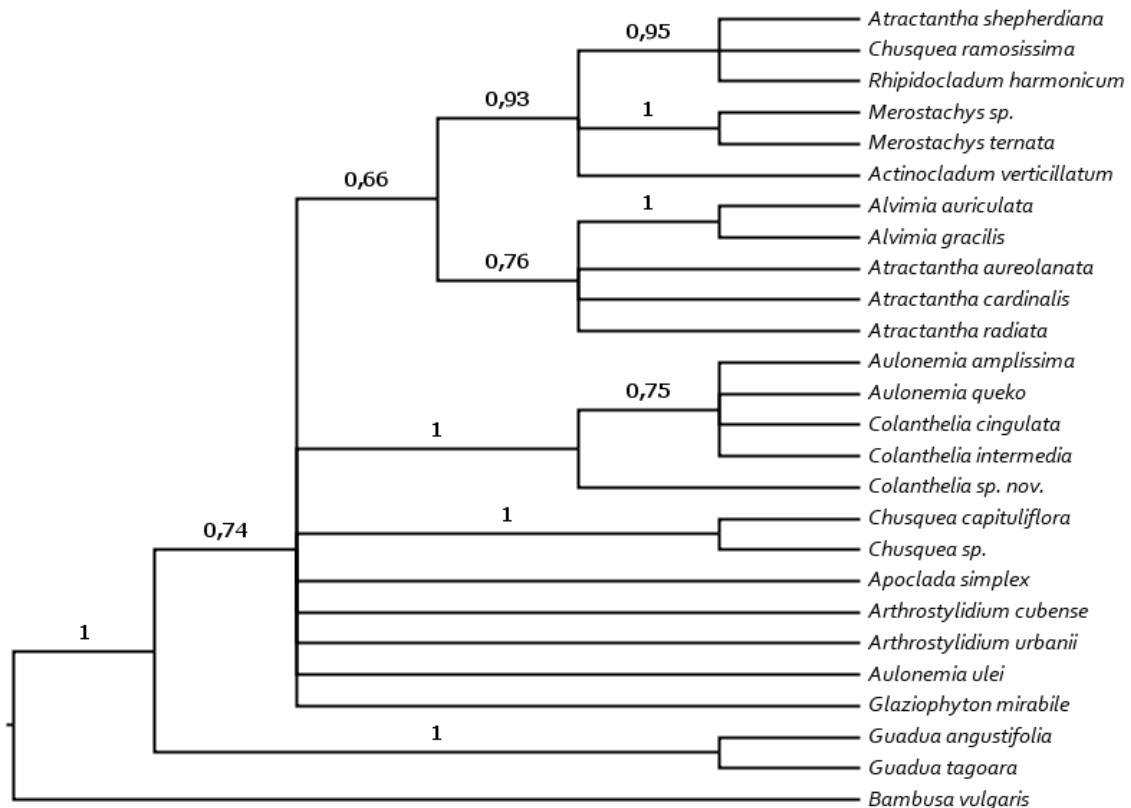
**Figura 7.** Árvore de consenso estrito do espaçador intergênico trnT-trnL a partir da Máxima Parcimônia. Os valores de *bootstrap* (> 50%) estão representados nos nós dos ramos.

A análise de máxima parcimônia do espaçador trnT-trnL apresentou baixa resolução, não sendo capaz de separar sequer os níveis taxonômicos superiores, como subtribos. Assim como nas análises dos marcadores *ndhF* e *trnD-trnT*, alguns gêneros mantiveram sua topologia como grupos monofiléticos, como *Alvimia*, *Guadua* e *Merostachys*, que exibiram moderado a altos valores de *bootstrap*, 75%, 93% e 98%, respectivamente (Figura 7).

Para a análise Bayesiana, o MrModeltest selecionou o GTR+G (*General Time Reversible plus Gamma*) como o modelo evolutivo mais adequado aos dados de sequência de nucleotídeos do espaçador trnT-trnL (YANG, 1994).

A topologia da árvore Bayesiana se aproximou bastante da Máxima Parcimônia, porém alguns clados apresentaram, nesta análise, suportes mais robustos: *Colantheia* + *Aulonemia* (probabilidade posterior de 1,00 X 73% de *bootstrap* da MP); *Guadua* e

*Merostachys* que se mantiveram como gêneros monofiléticos (probabilidade posterior de 1,00 cada).



**Figura 8.** Árvore Bayesiana de consenso de maioria do espaçador intergênico trnT-trnL. Os valores de probabilidade posterior estão indicados nos nós dos ramos.

**Tabela 5.** Sumário estatístico das árvores obtidas com análise a partir da análise de Máxima Parcimônia para os marcadores cloroplastídicos individuais e combinados para Bambuseae.

| Dados      | Táxons analisados | Tamanho das sequências alinhadas | PIC <sup>1</sup> | IC <sup>2</sup> | IR <sup>3</sup> | IH <sup>4</sup> | RC <sup>5</sup> |
|------------|-------------------|----------------------------------|------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| ndhF       | 26                | 1.170                            | 47               | 0,82            | 0,18            | 0,18            | 0,72            |
| trnD-trnT  | 27                | 1.228                            | 38               | 0,90            | 0,86            | 0,10            | 0,77            |
| trnT-trnL  | 26                | 839                              | 45               | 0,86            | 0,83            | 0,14            | 0,72            |
| Combinados | 27                | 3.297                            | 130              | 0,83            | 0,82            | 0,16            | 0,68            |

<sup>1</sup> PIC: Caracteres parcimonia-informativos; <sup>2</sup> IC: Índice de consistência; <sup>3</sup> IR: Índice de retenção; <sup>4</sup> IH: Índice de homoplasia; <sup>5</sup> RC: índice de consistência rescalonado

### 3.2.3 Análise dos dados combinados

A análise de máxima parcimônia das regiões cloroplastídicas combinadas resultou em 3.297 caracteres, dos quais apenas 130 foram informativos para a parcimônia. Foram obtidas 199 árvores igualmente parcimoniosas, a partir das quais foi gerada uma árvore de consenso estrito com 366 passos, índice de consistência (IC) igual a 0,83, índice de homoplasia (IH) igual a 0,16, índice de retenção igual (IR) a 0,82 e índice de consistência rescalonado (RC) igual a 0,68 (Tabela 5).

A análise de inferência Bayesiana produziu uma árvore (Figura 9) com topologia similar a da MP.

O modelo selecionado pelo MrModeltest para os dados combinados foi GTR+I+R (*General Time Reversible plus Gamma*).

Corroborando com estudos anteriores (CLARK *et al.*, 2007; FISHER *et al.*, 2009; SUNGKAEW *et al.*, 2009; TYRREL *et al.*, 2012), em ambos os métodos de inferência filogenética utilizados, as três subtribos amostradas: Arthrostylidiinae, Guaduinae e Chusqueinae foram bem sustentadas como monofiléticas (71% BS, 0,99 PP; 100% BS, 1,00 PP; 96% BS, 1,00 PP, respectivamente).

Chusqueinae é uma subtribo bem sustentada como uma linhagem monofilética tanto em estudos morfológicos quanto moleculares, sendo que todas as espécies amostradas compartilham a presença de gemas múltiplas por nó, uma estrutura de espiguetas uniforme com quatro glumas e um flósculo fértil que falta a extensão da ráquila (CLARK *et al.*, 2007; FISHER *et al.*, 2009; JUDZIEWICZ *et al.*, 1999). Confirmando essa hipótese, neste estudo tanto as análises morfológicas quanto as moleculares suportaram a monofilia de tal subtribo. Chusqueinae é altamente sustentada como grupo irmão do clado Arthrostylidiinae + Guaduinae (-- BS; 1,00 PP) (CLARK *et al.*, 2007; SUNGKAEW *et al.*, 2009; TYRREL *et al.*, 2012; KELCHNER & CLARK, 1997).

Em acordo com outros estudos (CLARK *et al.*, 2007; TYRREL *et al.*, 2012), também foi registrada a monofilia da subtribo Guaduinae, que foi altamente sustentada na análise de máxima parcimônia e na inferência Bayesiana (100% BS; 1,00 PP). O relacionamento irmão entre as subtribos Guaduinae e Arthrostylidiinae foi bem sustentado (94% BS; 1,00 PP)

(CLARK *et al.*, 2007; TYRREL *et al.*, 2012; SUNGKAEW *et al.*, 2009). O gênero *Guadua* mostrou-se monofilético em ambas as análises, sendo altamente sustentado (100% BS, 1,00 PP).

Assim como em outras análises (TYRREL *et al.*, 2012), os gêneros *Apoclada* e *Eremocaulon* formaram um grupo irmão em um clado altamente sustentado (97% BS; 1.00 PP). Estes dois gêneros taxonomicamente posicionados na subtribo Guaduinae compartilham a ausência de espinhos e faixas de tricomas infra e supra-nodal, características estas comuns aos outros representantes de Guaduinae (LONDONÕ & CLARK, 2002).

Dentro de Arthrostylidiinae foram formados diversos clados, e diferentemente dos resultados apresentados por estudos anteriores, *Aulonemia ulei* e *Glaziophyton mirabile* não se posicionaram como grupo irmão no presente trabalho, mas sim como uma politomia na base da subtribo, demonstrando que os três marcadores moleculares utilizados foram insuficientes para resolver alguns clados supostamente relacionados (TYRREL *et al.*, 2012). *Arthrostylidium* e *Rhipidocladum* formaram um clado, moderadamente sustentado (84% BS, 1,00 PP), sendo que tal relação entre estes gêneros corroboram com os resultados obtidos por Tyrrel e colaboradores (2012).

A análise combinada dos dados resultou na formação de um clado altamente sustentado (98% BS; 1,00 PP), constituído por duas das três espécies de *Aulonemia* amostradas neste estudo juntamente com as espécies de *Colantheria*. A sinflorescência paniculada e o padrão de ramificação das espécies de *Colantheria* sugerem uma afinidade com *Aulonemia*. Além de compartilharem características morfológicas e habitats semelhantes, não há limites genéricos bem estabelecidos para estes táxons (SANTOS-GONÇALVES, com. pess.). Estudos preliminares realizados (JUDZIEWICZ & CLARK, com. pess.) indicam que *Colantheria* poderá ser colocado como um subgênero de *Aulonemia*. Como pode ser observado na figura 9, sem a inclusão das espécies de *Colantheria*, o gênero *Aulonemia* forma um grupo parafilético.

Outro agrupamento observado, composto por *Merostachys*, *Atractantha shepherdiana* e *Actinocladum verticillatum* foi moderadamente sustentado como monofilético (54% BS; 1,00 PP). *Actinocladum* forma um grupo irmão com *Merostachys* + *A. shepherdiana*; os gêneros *Merostachys* e *Actinocladum* compartilham um padrão de ramificação conhecido como “fan-shaped” (onde os ramos desenvolvidos se assemelham a uma mão aberta) e fruto

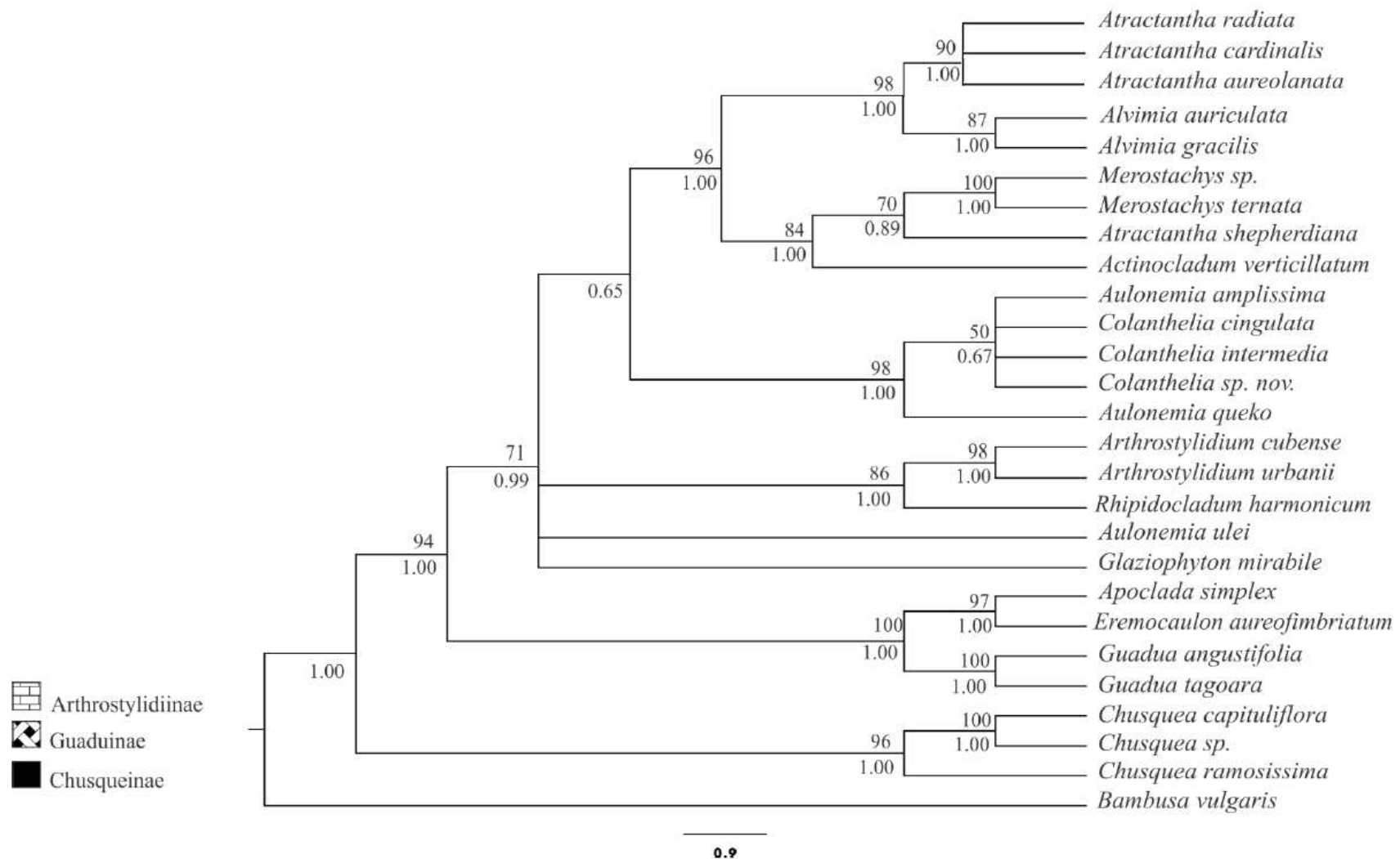
do tipo nucóide. Ainda dentro deste grupo, o gênero *Merostachys* mostrou-se monofilético (100% BS; 1,00 PP) e formou um grupo irmão com *A. shepherdiana*, porém com baixo suporte (70% BS; 0,89 PP).

Apesar do baixo valor de sustentação, o posicionamento de *Atractantha shepherdiana* deve ser mais bem investigado, uma vez que na maioria das análises individuais essa espécie se posicionou com *Merostachys*. Além disso, há dúvidas sobre o atual posicionamento de *A. shepherdiana*, uma espécie conhecida apenas em estágio vegetativo, que inicialmente foi taxonomicamente posicionada em *Colantheia* por Santos-Gonçalves (2005), com base em dados morfológicos (número de ramos no complemento de ramo). Posteriormente, outros estudos (dados não publicados) morfoanatômicos (anatomia da lâmina foliar das folhas dos ramos) e estudos moleculares preliminares forneceram subsídios para posicionar a referida espécie em *Atractantha* (SANTOS-GONÇALVES *et al.*, 2011). Desse modo, análises futuras com base em outros marcadores moleculares poderão esclarecer o posicionamento ao nível de gênero desta espécie.

*Atractantha cardinalis*, *A. radiata* e *A. aureolanata* formam um grupo irmão com *Alvimia*, altamente sustentado (98% BS; 1,00 PP). Confirmando essa topologia, *Atractantha* e *Alvimia* são relatados na literatura (JUDZIEWICZ *et al.*, 1999) como proximamente relacionados; as espécies de *Alvimia* apresentam cariopse bacóide, o que, do ponto de vista da morfologia, é crucial para a manutenção da atual circunscrição do gênero. Além da distribuição das espécies de *Alvimia* se sobrepor à área de ocorrência de *Atractantha*, na Costa Atlântica no estado da Bahia (JUDZIEWICZ, 1992), as espécies desses gêneros compartilham hábito escandente, similaridades na morfologia dos ramos e presença de pseudoespiguetas (JUDZIEWICZ *et al.*, 1999). Ressalta-se que *A. radiata*, espécie-tipo do gênero, no presente estudo está agrupada com *A. cardinalis* e *A. aureolanata*, em um clado altamente sustentado (90% BS; 1,00 PP).

Para uma melhor compreensão da evolução do grupo, esforços estão sendo feitos para que em trabalhos posteriores de filogenia da subtribo Arthrotyliinae, *A. amazonica* seja incluída nas análises, uma vez que esta difere de seus congêneres da Bahia por apresentar um pequeno lúmen central no colmo; folhas do colmo com lâmina ereta e persistente e espiguetas convencionais, características essas que a aproxima mais do gênero *Arthrotylidium* do que propriamente com as demais espécies de *Atractantha*.

A topologia apresentada se mostrou robusta e bem sustentada, corroborando o resultado de estudos que também utilizaram marcadores cloroplastídicos para resolver a filogenia de bambus (FISHER *et al.*, 2009; TYRREL *et al.*, 2012; KELCHNER & BPG, 2013; SUNGKAEW *et al.*, 2009). Apesar dos marcadores utilizados terem apresentado baixa resolução interna nos clados, os mesmos foram suficientes para demonstrar a monofilia dos grupos supragenéricos e dos gêneros: *Alvimia*, *Merostachys*, *Arthrostylidium*, *Guadua* e *Chusquea*.



**Figura 9.** Árvore de consenso estrito inferida a partir do conjunto de dados combinados dos espaçadores intergênicos trnD-trnT, trnT-trnL e do gene *ndhF* do DNA cloroplástico. Os números acima dos ramos são os valores de suporte de *bootstrap* (BS, > 50%) e os números abaixo dos ramos são os valores de probabilidade posterior (PP) da BI.

#### 4. CONCLUSÕES

- Pode-se verificar que a partir do sequenciamento de três marcadores do DNA cloroplastídico associados a uma amostragem mais ampla, que o gênero *Atractantha* é parafilético.
- Em conformidade com outros estudos foi registrada a monofilia das três subtribos de bambus lignificados tropicais, *Arthrostyliidinae*, *Chusqueinae* e *Guaduinae*.
- Devido à baixa resolução obtida para o clado formado pelas espécies de *Aulonemia* e *Colantheia*, sugere-se para trabalhos posteriores um aumento no número de táxons amostrados e de marcadores cloroplastídicos, para melhor investigar a filogenia desse grupo.
- Os resultados aqui apresentados sugerem que os gêneros *Alvimia*, *Merostachys*, *Arthrostylidium*, *Guadua* e *Chusquea* são monofiléticos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BPG: Bamboo Phylogeny Group. An updated tribal and subtribal classification of the bamboos (Poaceae: Bambusoideae). In: GIELIS, J.; POTTERS, G. (Eds.). **Proceedings of the 9th World Bamboo Congress**. Antwerp, Belgium. 2012. p. 3-27.

BURMAN, A. G. & FILGUEIRAS, T. S. A review of the woody bamboo genera of Brazil (Gramineae:Bambusoideae:Bambuseae). **Thaiszia**, v. 3, p. 53-88. 1993.

CALDERON, C.E. & SODERSTROM, T.R. Morphological and anatomical considerations of the grass subfamily Bambusoideae based on the new genus *Maclurolyra*. **Smithsonian Contributions to Botany**, v. 11, p. 1-55. 1973.

CALDERÓN, C.E. & SODERSTROM, T.R. The Genera of Bambusoideae (Poaceae) of the American Continent: Keys and Comments. **Smithsonian Contr. Bot.**, v. 44, p. 1-27. 1980.

CHASE, M.W. & HILLS, H.H. Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. **Taxon**, v. 40, p. 215-220. 1991.

CLARK, L.G. Diversity and Biogeography of Neotropical Bamboos (Poaceae: Bambusoideae). **Acta bot. bras.**, v. 4, n. 1, p. 125-132. 1990.

CLARK, L.G., DRANSFIELD, S., TRIPLETT, J. & SÁNCHEZ-KEN, J.G. Phylogenetic relationships among the one-flowered, determinate genera of Bambuseae (Poaceae: Bambusoideae). **Aliso**, v. 23, p. 315-332. 2007.

CLARK, L.G.; ZHANG, W. & WENDEL, J.F. A phylogeny of the grass family (Poaceae) based on *ndhF* sequence data. **Systematic Botany**, v. 20, p. 436-460. 1995.

CLAYTON, D.K. & RENVOIZE, A. **Genera Graminum: Grasses of the World**. London: Her Majesty's Stationery Office. 1986. p. 389.

CLAYTON, W.D., VORONTSOVA, M.S., HARMAN, K.T. AND WILLIAMSON, H. **GrassBase - The Online World Grass Flora**. 2006. Disponível em: <<http://www.kew.org/data/grasses-db.html>>. Acesso em: 28 nov. 2013.

DOYLE, J.J. & DOYLE, J. L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 19, p. 11-15. 1987.

DUVALL, M.R. & MORTON, B.R. Molecular phylogenetics of Poaceae: An expanded analysis of rbcL sequence data. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 5, p. 352-358. 1996.

FELSENSTEIN, J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution**, v. 39, p. 783-791. 1985.

FILGUEIRAS, T. S. & PEREIRA, B. A. S. On the flowering of the *Actinocladum verticillatum* (Gramineae:Bambusoideae). **Biotropica**, v. 20, p. 164-166. 1988.

FILGUEIRAS, T. S. & SANTOS-GONÇALVES, A. P. A checklist of the basal grasses and bamboos in Brazil. **Bamboo Science and Culture**, v. 18, n. 1, p. 7-18. 2004.

FILGUEIRAS, T. S. Bambus nativos do Distrito Federal, Brasil (Gramineae:Bambusoideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 11, p. 47-66. 1988.

FISHER, A.E.; TRIPLETT, J.K.; HO, C.S.; SCHILLER, A.D.; OLTROGGE, K.A.; SCHRODER, E.S.; KELCHNER, S.A.; CLARK, L.G. Paraphyly in the bamboo subtribe Chusqueinae (Poaceae: Bambusoideae) and a revised infrageneric classification for *Chusquea*. **Systematic Botany**, v. 34, p. 673-683. 2009.

GPWG: Grass Phylogeny Working Group. Phylogeny and subfamilial classification on of the grasses. **Ann. Missouri Bot. Gard.**, v. 88, p. 373-457. 2001.

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

HASEGAWA, M.; KISHINO, H. & YANO, T. Dating the human-ape split by a molecular clock of mitochondrial DNA. **J. Mol. Evol.**, v. 22, p. 160-174. 1985.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOG, E.A. & STVENS, P.F. **Plant Systematic: A phylogenetic Approach**. Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland. 1999. p. 464.

JUDZIEWICZ, E.J. A revision of *Atractantha* (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 79, p. 160-183. 1992.

JUDZIEWICZ, E.J., CLARK, L.G., LONDOÑO, X., STERN, M.J. **American Bamboos**. Washington: Smithsonian Institution. 1999. p. 392.

KELCHNER, S.A. & BPG. Higher level phylogenetic relationships within the bamboos (Poaceae: Bambusoideae) based on five plastid markers. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 67, p. 404-413. 2013.

KELCHNER, S.A. & CLARK, L.G. Molecular evolution and phylogenetic utility of the rpl16 intron in *Chusquea* and the Bambusoideae (Poaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 8, p. 385-397. 1997.

LONDONO, X. & CLARK, L.G. A revision of the Brazilian Bamboo Genus *Eremocaulon* (Poaceae: Bambusoideae: Guaduinae). **Systematic Botany**, v. 27, n. 4, p. 703-721. 2002.

McCLURE, F.A. **Genera of Bamboos Native to the New World (Gramineae: Bambusoideae)**. Ed. SODERSTROM, T. Washington: Smithsonian Contributions to Botany, n. 9. 1973. p. 148.

NADGAUDA, R.S., PARASHARAMI, V.A. & MASCARENHAS, A.F. Precocious flowering and seeding behaviour in tissue-cultured bamboos. **Nature**, v. 344, p. 335-336. 1990.

OLIVEIRA, R. P. A tribo Olyreae (Poaceae: Bambusoideae) no Estado da Bahia, Brasil. Dissertação de Mestrado. **Universidade Estadual de Feira de Santana**, Feira de Santana. 2001.

PAGE, R.D.M. **NDE: Nexus Data Editor, versão 0.5.0.** Disponível em: <<http://taxonomy.zoology.gla.ac.uk/rod/NDE/nde.html>>. Acesso em: 15 set. 2012.

POSADA, D. & CRANDALL, K.A. ModelTest: testing the model of DNA substitution. **Bioinformatics**, v. 14, p. 817–818. 1998.

RONQUIST, F. & HUELSENBECK, J.P. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, p. 1572-1574. 2003.

SANTOS-GONÇALVES, A. P. Bambus (Bambusoideae s.l.: Poaceae), no Parque Estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. Dissertação de Mestrado. **Universidade Federal de Viçosa**, Viçosa. 2000.

SANTOS-GONÇALVES, A. P. Estudos taxonômicos e morfoanatômicos em Colantheia (Poaceae:Bambusoideae:Bambuseae). Tese de doutorado. **Universidade Estadual de Campinas**, Campinas. 2005.

SANTOS-GONÇALVES, A.P.; FILGUEIRAS, T.S. & CLARK, L.G. *Atractantha shepherdiana*, a New Species of Woody Bamboo (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae) from Brazil. **Systematic Botany**, v. 36, n. 2, p. 310-313. 2011.

SENDULSKY, T. *Merostachys multiramea* (Poaceae:Bambusoideae: Bambuseae) and similar species from Brazil. **Novon**, v. 5, n. 5, p. 76-96. 1995.

SENDULSKY, T. Twelve new species of *Merostachys* (Poaceae:Bambusoideae:Bambuseae) from Brazil. **Novon**, v. 7, n. 3, p. 285-307. 1997.

SODERSTROM, T. R. & ELLIS, R. P. The position of bamboo genera and allies in a system of grass classification. In: **Grass Systematic Evolution**, eds T.R. Soderstrom, K.W. Hilu, C.S. Campbell & M.E. Barkworth: Smithsonian Institution. 1987. p. 225-238.

SORENG, R.J. & DAVIS, J.I. Phylogenetic structure of the Poaceae: Results from morphology, molecules, and total evidence. **American Journal of Botany**, v. 82, p. 163. 1995.

SUNGKAEW, S.; STAPLETON, C.M.A.; SALAMIN, N. & HODKINSON, T.R. Non-monophyly of the woody bamboos (Bambuseae; Poaceae): a multi-gene region phylogenetic analysis of Bambusoideae s.s. **J Plant Res**, v. 122, p. 95-108. 2009.

SWOFFORD, D.L. **PAUP**. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other methods). Versão 4.0b10. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 2002.

TRIPLETT, J.K., CLARK, L.G. Phylogeny of the temperate woody bamboos (Poaceae: Bambusoideae) with an emphasis on Arundinaria and allies. **Systematic Botany**, v. 35, p. 102-120. 2010.

TYRREL, C.D.; SANTOS-GONÇALVES, A.P.; LONDONÕ, X. & CLARK, L.G. Molecular phylogeny of the arthrotyliidioid bamboos (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae: Arthrotyliidiinae) and new genus *Didymogonyx*. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 65, n. 1, p. 136-148. 2012.

VIANA, P. L. O gênero *Aulonemia* Goudot (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae) no Brasil. Tese de Doutorado. **Universidade Federal de Minas Gerais**, Belo Horizonte. 2010.

WATSON, L. & DALLWITZ, M. J. **The grass genera of the world**. Wallingford: C. A. B. International. 106p. 1992.

YANG, Z. Maximum likelihood phylogenetic estimation from DNA sequences with variable rates over sites: approximate methods. **J Mol Evol**, v. 39, p. 306-314. 1994.

ZHANG, W. & CLARK, L. Phylogeny and Classification of the Bambusoideae (Poaceae). In: **Grass Systematics and Evolution**, Eds. S.W.L. Jacobs & J. Everett (CSIRO:Melbourne). 2000. p. 35-41.