

RENATA GABRIELA VILA NOVA DE LIMA

FILOGENIA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE *CHRYSOPHYLLUM* L. COM
ÊNFASE NA SEÇÃO *VILLOCUSPIS* A. DC. (SAPOTACEAE)



RECIFE

2019

RENATA GABRIELA VILA NOVA DE LIMA

**FILOGENIA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DE *CHRYSOPHYLLUM* L. COM
ÊNFASE NA SEÇÃO *VILLOCUSPIS* A. DC. (SAPOTACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), como requisito para a obtenção do título de Mestre em Botânica.

Orientadora: Carmen Silvia Zickel

Coorientador: André Olmos Simões

Coorientadora: Liliane Ferreira Lima

RECIFE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

L732f Lima, Renata Gabriela Vila Nova de
Filogenia e distribuição geográfica de *Chrysophyllum* L. com
ênfase na seção *Villocuspis* A. DC. (Sapotaceae) / Renata Gabriela
Vila Nova de Lima. – 2019.
98 f. : il.

Orientadora: Carmen Silvia Zickel.

Coorientadores: André Olmos Simões e Liliane Ferreira Lima.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Botânica, Recife,
BR-PE, 2019.

Inclui referências e anexo(s).

1. Mata Atlântica 2. Filogenia 3. Plantas florestais 4. Sapotaceae
I. Zickel, Carmen Silvia, orient. II. Simões, André Olmos, coorient.
III. Lima, Liliane Ferreira, coorient. IV. Título

CDD 581

RENATA GABRIELA VILA NOVA DE LIMA

Filogenia e distribuição geográfica de *Chrysophyllum* L. com ênfase na seção *Villocuspis*
A. DC. (Sapotaceae Juss.)

Dissertação apresentada e _____ em ____/____/____

Orientadora:

Prof^a Dr^a Carmen Silvia Zickel

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Examinadores:

Prof^o Dr^o Jefferson Rodrigues Maciel

Jardim Botânico do Recife (Titular)

Prof^o Dr^o José Iranildo Miranda de Melo

Universidade Estadual da Paraíba (Titular)

Dr^a Sarah Maria Athiê de Souza

Universidade Federal Rural de Pernambuco (Suplente)

Prof^a Dr^a Juliana Santos Silva

Universidade Federal da Bahia (Suplente)

“Dedico a minha família por todo apoio, incentivo e amor.”

AGRADECIMENTOS

À Deus.

Agradeço à Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), em especial ao programa de pós-graduação em Botânica e a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), onde recebi toda a infraestrutura para a realização desta dissertação. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa concedida.

Agradeço a Carmen Zickel, minha orientadora, pelo incentivo, amizade, conhecimento transmitido e pela confiança em mim depositada na realização deste trabalho. À André Simões, meu coorientador, por toda confiança, por transmitir seu conhecimento de uma forma tão clara e paciente. A minha coorientadora e amiga, Liliane Lima, por todo carinho e conhecimento transmitido.

Aos amigos do Laboratório de Florística e de Ecossistemas Costeiros: Allisson, Angélica, Ariade, Claudijane, Kássio, Patrícia e Tássia, por serem sempre tão prestativos, pelos conselhos, incentivos e por terem compartilhado tantos momentos de alegrias. Em especial, a Angélica Ferreira com que compartilhei muitas dúvidas, que sempre esteve disposta a me ajudar e se tornou uma grande amiga.

Aos companheiros do Laboratório de Taxonomia da Unicamp. Em especial, Carol que teve toda a paciência para me ensinar todo o processo de bancada, sempre muito solícita. À Andreza, Pavarotte e Schimizu, com quem compartilhei muitas dúvidas e sempre foram tão prestativos. Aos meus amigos Antonio, Edimar, Fernanda e Naime que fizeram a estadia em Campinas ser mais leve.

A todos os professores e servidores que contribuíram para a conclusão deste trabalho, especialmente à professora Josiane Araújo e Edson Moura. Aos funcionários Cynara Leleu e Seu Mano pelo apoio, ajudas, conselhos e pelas conversas.

Às minhas amigas de infância, Jéssica e Nathália, que sempre estiveram presentes me aconselhando e incentivando.

A toda minha família pela compreensão, amparo, incentivo e carinho. A minha mãe, Cristina; meu pai, Lauro e minha irmã, Laura, por fazer parte de todo o meu crescimento pessoal e profissional. Amo vocês.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigada!

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| LISTA DE FIGURAS..... | vi |
| LISTA DE TABELAS..... | viii |
| RESUMO..... | ix |
| ABSTRACT..... | x |
| INTRODUÇÃO GERAL..... | 11 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA..... | 13 |
| 2.1. O gênero <i>Chrysophyllum</i> L. com enfoque na seção <i>Villocuspis</i> A. DC..... | 13 |
| 2.2. Estudos moleculares de Sapotaceae/Chrysophylloideae com enfoque em <i>Chrysophyllum</i> L..... | 17 |
| 2.3. Reconstrução do caráter morfoanatômico para Sapotaceae..... | 19 |
| 2.4. <i>Status</i> de conservação e distribuição geográfica de espécies ameaçadas – <i>Chrysophyllum januariense</i> (C. seção <i>Villocuspis</i>)..... | 21 |
| 2.5. Referências bibliográficas..... | 24 |
| 3. CAPÍTULO I: Estudos filogenéticos em <i>Chrysophyllum</i> L. com ênfase na seção <i>Villocuspis</i> A. DC. (Sapotaceae)..... | 32 |
| 4. CAPÍTULO II: Update do conhecimento biogeográfico e <i>status</i> de conservação de <i>Chrysophyllum januariense</i> Eichl. (Sapotaceae)..... | 62 |
| 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 89 |
| 6. NORMAS DAS REVISTAS..... | 90 |
| ANEXOS..... | 91 |

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I: Estudos filogenéticos em *Chrysophyllum* L. com ênfase na seção *Villocuspis* A. DC. (Sapotaceae)

Fig. 1 Imagens de *Chrysophyllum* (Sapotaceae). **a** *C. arenarium*, arbusto da Chapada do Araripe; **b** *C. paranaense*, indivíduo jovem na floresta Atlântica; **c** casca de *C. splendens*; **d** filotaxia e botões de *C. arenarium*; **e** botões, flores e frutos em fascículos nos ramos de *C. cainito*; **f** botões em fascículos de *C. rufum*; **g** flores em fascículos de *C. splendens*; **h** inserção do filete na base do tubo da corola e antera vilosa de *C. januariense* (CVRD 1300); **i** detalhe da cicatriz da semente de *C. splendens* (CVRD 12361). Fotografia por R.G.V.N. Lima.....51

Fig. 2 Árvore de consenso da maioria baseada na análise bayesiana do conjunto de dados nucleares combinados (ITS e ETS,) e plastídiais *trnH-psbA* e *trnS-trnG*. Probabilidades posteriores (PPs) estão indicadas acima, e *bootstrap* (BS) abaixo em cada ramo. Valores de sustentação baixos (PP < 0,80; BS < 75%) não estão representados na árvore. As seções de *Chrysophyllum* são codificadas por cores de acordo com a legenda.....52

Fig. 3 Anatomia das espécies de *Chrysophyllum* sect. *Villocuspis*: **a** pecíolo de *Chrysophyllum januariense* Eichler; **b** pecíolo de *C. sparsiflorum* Klotzsch ex Miq.; **c** cristais no pecíolo de *C. arenarium* Allemão; **d** nervura principal de *C. flexuosum* Mart.; **e** nervura principal de *C. paranaense* T.D. Penn.; **f** mesofilo de *C. rufum* Mart.; **g** tricoma malpighiáceo na face abaxial de *C. splendens* Spreng. Abreviações: C: cristais prismáticos; E: Esclereídes; La: laticíferos; LP: parênquima lacunoso; P: floema; PP: parênquima paliçádico; Tr: tricomas malpighiáceos; X: xilema * Barra de escala: 650 µm.....53

Fig. 4 Reconstrução do estado dos caracteres ancestrais diagnósticos para *Chrysophyllum* e para *C.* sect. *Villocuspis*. A seta preta aponta para o gênero *Chrysophyllum* s.s. e a seta vermelha para a seção *Villocuspis*.....54

Fig. S1 Árvore filogenética baseada na análise bayesiana de sequências do marcador ITS. Probabilidades posteriores (PPs) estão indicadas acima, e *bootstrap* (BS) abaixo em cada ramo. Valores de sustentação baixos (PP < 0,95; BS < 75%) não estão representados na árvore.....55

Fig. S2 Árvore filogenética baseada na análise bayesiana de sequências do marcador ETS. Probabilidades posteriores (PPs) estão indicadas acima, e *bootstrap* support (BS) abaixo em cada ramo. Valores de sustentação baixos (PP < 0,95; BS < 75%) não estão representados na árvore.....56

Fig. S3 Árvore filogenética baseada na análise bayesiana de sequências do marcador *trnH-psbA*. Probabilidades posteriores (PPs) estão indicadas acima, e *bootstrap* support (BS) abaixo em cada ramo. Valores de sustentação baixos (PP < 0,80; BS < 75%) não estão representados na árvore.....57

Fig. S4 Árvore filogenética baseada na análise bayesiana de sequências do marcador *trnS-trnG*. Probabilidades posteriores (PPs) estão indicadas acima, e *bootstrap* support (BS) abaixo em cada ramo. Valores de sustentação baixos (PP < 0,95; BS < 75%) não estão representados na árvore.....58

CAPÍTULO II: Update do conhecimento biogeográfico e *status* de conservação de *Chrysophyllum januariense* Eichl. (Sapotaceae)

Figura 1. Curvas de resposta logística da ocorrência de *C. januariense* por camada ambiental com contribuição superior a 1% em SDMp (A) e curvas de resposta logística da ocorrência de *C. januariense* por camada ambiental com contribuição superior a 1% em SDMp, tendo as demais camadas como co-variáveis (B).....81

Figura 2. SDMf para *C. januariense* pelos limites estaduais. Círculos em azul apontam manchas com adequabilidade ambiental superior a 0.7.....82

Figura 3. SDMf para *C. januariense* pelos Ecossistemas. Setas em azul indicam manchas sob áreas do agreste (zonas de transição fitogeográfica).....83

Figura 4. SDMf para *C. januariense* pelas UCs com mais de 10 Km² de extensão e manchadas em mais que 50% da área com adequabilidade ambiental >0.7. 1- RVS Matas do Sistema Gurjaú; 2- RPPN Fazenda Caruara; 3- PE Lagoa do Açú; 4- REBIO Poço das Antas; 5- APA da Serra De Sapatiba; 6- PE Costa do Sol; 7- APA Massambaba; 8- APA Serras De Maricá; 9- PE Rio Vermelho.....84

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I: Estudos filogenéticos em *Chrysophyllum* L. com ênfase na seção *Villocuspis* A. DC. (Sapotaceae)

Tab. S1 Taxa, informações sobre coletas, vouchers e acessos de GenBank utilizados neste estudo filogenético para *Chrysophyllum* sect. *Villocuspis* (Sapotaceae, Chrysophylloideae). Abreviaturas: CA – Caatinga, CE – Cerrado e MA – Mata atlântica.....59

Tabela S2. Lista de caracteres morfoanatômicos utilizados para a reconstrução do ancestral de *Chrysophyllum* sect. *Villocuspis* (Sapotaceae). Números indicam estados para caracteres de 1 a 22. Esses caracteres e estados são os seguintes: **(1)** Filotaxia: Alterna-dística = 0; Alterna-espiralada = 1; Alterna-dística e espiralada = 2; Oposta ou verticilada=3. **(2)** Margem: Inteira = 0; Revoluta = 1; Serreada = 2. **(3)** Venação: Broquidódroma = 0, Eucamptódromobroquidódroma = 1; Eucamptódroma =2. **(4)** Estípulas: Ausente = 0; Presente = 1. **(5)** Sexo da Flor: Bissexuada = 0; Unissexuada = 1. **(6)** Forma da corola: Corola rotada ou amplamente cupuliforme = 0; Corola tubular, campanulada ou globosa = 1. **(7)** Número de lobos da corola: $\leq 5 = 0$; Geralmente 5 = 1; $\geq 5 = 2$. **(8)** Estames: Exsertos = 0; Inclusos = 1; **(9)** Inserção do estame no tubo da corola: Ápice do tubo da corola = 0; Meio ou na base no tubo da corola = 1. **(10)** Antera: Glabra = 0; Vilosa = 1. **(11)** Estaminódios: Ausente = 0; Presente = 1. **(12)** Nº de lóculos no ovário: $\leq 5 = 0$; Geralmente 5 = 1; $\geq 5 = 2$. **(13)** Cicatriz na semente: Cicatriz adaxial ou basi-ventral relativamente ampla = 0; Cicatriz adaxial estreita = 1. **(14)** Endosperma: Ausente = 0; Presente = 1. **(15)** Conformação do pecíolo: Plano-convexo = 0; Côncavo-convexo = 1; Biconvexo = 2; Circular = 3. **(16)** Feixe vascular do pecíolo: Plano-convexo = 0; Côncavo-convexo = 1; Arco-aberto com extremidade convoluta = 2. **(17)** Feixe acessório no pecíolo: Ausência = 0; Presença = 1. **(18)** Conformação da nervura principal: Plano-convexo = 0; Côncavo-convexo = 1; Biconvexo = 2. **(19)** Feixe vascular da nervura principal: Plano-convexo = 0; Côncavo-convexo = 1; Biconvexo = 2. **(20)** Esclereídes: Ausência = 0; Presença = 1. **(21)** Cristais: Ausência = 0; Presença =1. **(22)** Bainha esclerênquimática: Ausência = 0; Presença = 1.....60

CAPÍTULO II: Update do conhecimento biogeográfico e *status* de conservação de *Chrysophyllum januariense* Eichl. (Sapotaceae)

Tabela 1. Registros de *C. januariense* acurados e sem influência do viés de autocorrelação espacial.....85

Tabela 2. Contribuição percentual de variáveis para a geração do modelo preliminar - SDMP de distribuição geográfica potencial de *C. januariense*. Legenda: (*) Variáveis colineares.....86

Tabela S1. Nomenclatura, abreviação, plataforma de *download* e fonte das camadas bioclimáticas utilizadas na computação dos modelos.....87

RESUMO

Sapotaceae abrange 60 gêneros e 1343 espécies, com distribuição pantropical. As relações infragenéricas da família ainda apresentam-se incertas, devido, principalmente, ao conhecimento limitado do grupo. O gênero *Chrysophyllum* destaca-se por ser o segundo maior dentro da família, com 97 espécies, e por exibir um número elevado de representantes brasileiros com 31 espécies, 14 delas endêmicas. Dentre as seis seções de *Chrysophyllum*, *Villocuspis* se destaca por apresentar seis espécies brasileiras (com cinco endêmicas) e por ser a única seção em que todas as espécies ocorrem na floresta Atlântica. Devido à seção *Villocuspis* ocorrer em um bioma altamente degradado, pelo avanço desenfreado da urbanização e influência antrópica nos fragmentos florestais, quatro de suas espécies estão inseridas na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas de Extinção e uma se encontra extinta, segundo a IUCN. *Villocuspis* não se destaca em termos numéricos no Brasil, porém, suas espécies merecem atenção em virtude da ameaça previamente detectada e, por ser um grupo carente de estudos taxonômicos e filogenéticos. Nesse sentido, essa dissertação teve como objetivo realizar uma filogenia molecular para *Chrysophyllum*, com ênfase na seção *Villocuspis*, a fim de discutir as relações interespecíficas e intergenéricas (Capítulo I) e fornecer dados sobre a distribuição geográfica potencial e avaliar o *status* de conservação de *C. januariense* Eichler, uma das espécies inseridas na seção, que se encontra na categoria “extinta” pela IUCN (Capítulo II).

Palavras-chave: Molecular, floresta Atlântica, Modelagem, Chrysophylloideae.

ABSTRACT

Sapotaceae compasses 60 genders and 1343 species, distributed in the pantropical region. The family's infrageneric relations still present themselves uncertain, due mainly to the limited knowledge of the group. The *Chrysophyllum*'s gender stands out for its size, being the second largest within the family, with 97 pantropical species and also for exhibiting an elevated number of Brazilian representatives, with 31 species, of which 14 being endemic. Among the *Chrysophyllum*'s six sections, *Villocuspis* sticks out for possessing six Brazilian species (5 of which are endemic) and for being the only section in which every specie occurs in the Atlantic forest. Due to the *Villocuspis* section occurring in a highly degraded biome - caused by the uncontrolled advance of urbanization and anthropogenic influence on forest fragments - four of its species find themselves in the red list of endangered species and one is extinct, according to IUCN. *Villocuspis* does not stand out in numerical terms in Brazil, however, its species deserve attention in virtue of the previously detected threat, as well as being, a group lacking in taxonomic and phylogenetic's studies. Hence, this dissertation had as an aim perform a molecular phylogeny for *Chrysophyllum*, with an emphasis on the *Villocuspis* section, in order to discuss interspecific and intergeneric relations (Chapter I) and to provide data on the potential geographic distribution and to evaluate the conservation status of *C. januariense* Eichler, one of the species included in the section, which is in the category "extinct" by the IUCN (Chapter II).

Key-words: Molecular, Atlantic forest, Modeling, Chrysophylloideae.

1. INTRODUÇÃO GERAL

A família Sapotaceae Juss. contribui significativamente para a flora mundial, destacando-se inclusive por sua importância econômica, devido à produção de látex e à utilização da madeira (LAWRENCE, 1951; BARROSO, 1978; SOUSA e LORENZI, 2012). Esta família apresenta distribuição pantropical, compreendendo 60 gêneros e 1343 espécies (THE PLANT LIST, 2013). No Brasil, abrange 12 gêneros, 235 espécies (104 spp. endêmicas) e 27 subespécies (3 subsp. endêmicas) (CARNEIRO et al., 2015).

Sapotaceae está inserida na ordem Ericales, no clado das Asterídeas, juntamente com Ebenaceae, Ericaceae, Lecythidaceae, Marcgraviaceae e Myrsinaceae, dentre outras (APG IV, 2016). Seus representantes são arbustos ou árvores, com látex presente no caule, ramos e frutos, geralmente de coloração branca, raramente amarelo ou azul. O indumento quase sempre está presente e com tricomas geralmente malpighiáceos. As folhas são simples, dispostas em alternas dísticas ou espiraladas, raramente opostas ou verticiladas, com ou sem estípulas. A inflorescência geralmente em fascículos axilares, ramifloros ou caulifloros. Suas flores são pouco vistosas, bissexuadas ou unissexuadas (planta monóica ou dióica), actinomorfas. Os estames são epipétalos, com ou sem estaminódios. Os frutos são do tipo baga ou raramente drupa, geralmente carnosos e as sementes geralmente são lisas e lustrosas, livres do pericarpo, hilo característico, com presença ou ausência de endosperma (PENNINGTON, 1991).

Na última revisão realizada para Sapotaceae, Pennington (1991), baseado em dados morfológicos, citológicos e químicos, classificou a família em cinco tribos: Mimosopeae, Isonandreae, Sideroxyleae, Chrysophylleae e Omphalocarpeae. Com base nessa revisão, Swenson e Anderberg (2005) propuseram a mais atual classificação filogenética para a família, subdividindo-a em três subfamílias: Chrysophylloideae (correspondendo basicamente às tribos Chrysophylleae e Omphalocarpeae), Sapotoideae (Isonandreae, Mimosopeae e Sideroxyleae) e Sarcospermatoidae (Sarcosperma). Esse último táxon foi confirmado na família já que emergiu como grupo-irmão dos demais representantes de Sapotaceae. A análise realizada pelos autores parece não sustentar a maioria das tribos sugeridas por Pennington (1991), exceto Sideroxyleae.

A subfamília Chrysophylloideae é representada por 28 gêneros e cerca de 600 espécies com maior diversidade de espécies na Australásia e América do Sul (SWENSON et al., 2008a). No Brasil, é representada por nove gêneros (*Chromolucuma* Monach., *Chrysophyllum* L., *Diploon* (Hoehne) Cronquist, *Ecclinusa* Mart., *Elaeoluma* Baill., *Micropholis* (Griseb.) Pierre, *Pouteria* Aubl., *Pradosia* Liais e *Sarcaulus* Radlk.) e 234 espécies, com ampla

distribuição e com registros para vários domínios fitogeográficos (CARNEIRO et al., 2015). A subfamília é apoiada por cinco sinapomorfias moleculares, já que caracteres morfológicos praticamente não contribuem para identificação de tal linhagem evolutiva (SWENSON e ANDERBERG, 2005). Os caracteres menos homoplásticos são a ausência de estípulas, cotilédones foliáceos e sementes com endosperma abundante, mas que também podem ser encontrados em Sapotoideae (SWENSON e ANDERBERG, 2005).

Dentre os gêneros da subfamília, *Chrysophyllum* L. destaca-se por ser o segundo maior, com 97 espécies pantropicais, sendo 31 espécies brasileiras (14 endêmicas). No Brasil, apresenta maior riqueza na floresta Amazônica e Atlântica, respectivamente (GOVAERTS et al., 2001; CARNEIRO et al., 2015). Os membros do gênero são reconhecidos por apresentar folhas alternas, dísticas ou espiraladas, ausência de estípulas, estames inclusos, ovário geralmente 5-locular, cotilédones foliáceos, radícula exserta e endosperma abundante (PENNINGTON, 1990).

No tratamento taxonômico mais recente Pennington (1991), ampliou o conceito morfológico de *Chrysophyllum* reconhecendo 18 sinônimos para o gênero. Além disso, dividiu-o em cinco seções (*Aneuchrysophyllum*, *Chrysophyllum*, *Priurella*, *Ragala*, e *Villocuspis*) para espécies Neotropicais. Dentre as seções, *Villocuspis* está representada por seis espécies basicamente restritas à floresta Atlântica brasileira, onde quatro delas são endêmicas (CARNEIRO et al., 2015). Cinco dos seus representantes estão inseridos na lista de espécies ameaçadas de extinção da IUCN (2018), sendo uma delas categorizada como extinta (PIRES, 1998). Análises moleculares evidenciaram que os limites genéricos de *Chrysophyllum sensu* Pennington (1991), como também de suas seções, ainda são insustentáveis (SWENSON e ANDERBERG, 2005; SWENSON et al., 2008a).

Nesse contexto, estudos filogenéticos e de modelagem geográfica constituem ferramentas importantes para elucidação das relações entre táxons e no esclarecimento da distribuição real e potencial do grupo. O presente trabalho apresenta uma filogenia para o gênero *Chrysophyllum* com enfoque na seção *Villocuspis*, a fim de discutir as relações interespecíficas e intergenéricas, como também a reconstrução histórica de alguns caracteres morfoanatômicos. Além disso, fornece dados sobre a distribuição geográfica potencial e o status de conservação de *C. januariense* Eichler, espécie categorizada como extinta pela IUCN.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O gênero *Chrysophyllum* L com enfoque na seção *Villocuspis* A.DC.

O gênero *Chrysophyllum* foi citado por Linnaeus (1753), na obra “*Species Plantarum*”, onde o autor definiu caracteres baseando-se na espécie *C. cainito* L., como: folha ovada, face adaxial glabra, estrias paralelas, face abaxial tomentoso-lustroso ferrugíneo; frutos redondos e grandes, de cor roxa.

De Candolle (1844) estabeleceu uma classificação inicial para Sapotaceae em sua obra “*Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis*”, na qual dividiu a família em seis grupos (nomeados informalmente), separando *Chrysophyllum* dos demais gêneros, devido à ausência de estames estéreis e de apêndice na corola. Além disso, descreveu 45 espécies para o gênero e subdividiu-o em três seções: *Oxistemon* (5 spp.), *Cainito* (30 spp.) e *Villocuspis* (10 spp.: *C. flexuosum* Mart., *C. michino* Kunth (nom. inval.), *C. africanum* A.DC., *C. obovatum* Wall. ex A. DC. = *Manilkara obovata* (Sabine & G. Don) J.H.Hemsl., *C. humboldtianum* Roem. & Schult. = *Micropholis humboldtiana* (Roem. & Schult.) T.D.Penn., *C. dubium* Steud. = *C. argenteum* Jacq., *C. ludovicianum* Raf., *C. sessiliflorum* Poir. = *Pouteria cayennensis* (A.DC.) Eyma, *C.? molle* Wall., *C. grandifolium* Steud. = *Palaquium philippense* (Perr.) C.B.Rob.), levando em consideração o formato e o indumento da corola, número de lobos, tamanho dos estames, formato e indumento das anteras, formato e tamanho do estigma e do estilete. De acordo com o autor, a seção denominada *Villocuspis* faz referência à presença de indumento viloso na antera.

Miquel (1863) na “*Flora brasiliensis*” separou *Chrysophyllum* dos demais gêneros de Sapotaceae pela ausência de estípulas, estames alternos ao lobo da corola e pelas sementes albuminosas. Além disso, dividiu *Chrysophyllum* em dois grupos nomeados como: Divisão I. *Splendentia* e Divisão II. *Modesta*, fundamentando-se na presença de tricomas nas folhas, no tipo e na coloração do indumento. Na divisão *Splendentia* o autor propôs as seções *Gymnanthera* (com oito spp.) e *Villocuspis* (*C. flexuosum*, *C. inornatum* Mart., *C. sparsiflorum* Klotzsch ex Miq. sp. nov., *C. splendens* Spreng., *C. pulcherrimum* Mart. & Eichler ex Miq. = *C. splendens* e *C. amplifolium* = *C. splendens*), utilizando como critério a posição dos estames no tubo da corola, a inserção do filete na antera e presença/ausência de tricomas nas anteras.

Em 1870, Eichler baseando-se nas obras de De Candolle (1844) e Miquel (1863), reconheceu o gênero em dois grupos: *Modesta* Miq. (três spp.) e *Villocuspis* (três spp.: *C. inornatum*, *C. flexuosum* e *C. januariense* Eichler sp. nov.). No entanto, o autor não

evidenciou em sua obra o critério para a separação desses grupos, nem a caracterização dos mesmos.

Radlkofer (1888) considerou três subfamílias e nove tribos para Sapotaceae: Dyssapotae (tribos: Oxytheceae, Chrysophylleae e Labramieae), Sapotae (Pouterieae, Sideroxyleae e Bumelieae) e Eusapoteae (Palaquieae, Isonandreae e Murieae). O gênero *Chrysophyllum* ficou subordinado à tribo Chrysophylleae corroborando a classificação de De Candolle (1844) para as seções do gênero *Chrysophyllum* (*Oxistemon*, *Cainito* e *Villocuspis*). O autor não apresentou em sua obra explicações ou citações dos caracteres utilizados para separação das subfamílias e das seções.

Engler (1890), baseado na obra de Radlkofer (1888), realizou uma análise mais detalhada para Sapotaceae, na qual reconheceu duas tribos (com base nas características do lobo da corola) e três subtribos (considerando o número de ciclos de estames e sua fertilidade): Mimosopeae e Palaquieae (subtribos Illipinae, Sideroxylinae e Chrysophyllinae). O gênero *Chrysophyllum* foi submetido à subtribo Chrysophyllinae, juntamente com *Amorphospermum* F. Muell., *Cryptogyne* Hook. f., *Ecclinusa* Mart., *Leptostylis* Benth., *Niemeyera* F. Muell., *Oxythece* Miq. e *Pradosia* Liais, e sendo diferenciado dos demais por apresentar um único verticilo de estames e ausência de estaminódios. Além disso, dentro do gênero *Chrysophyllum*, o autor reconheceu cinco seções: *Villocuspis* (*C. elegans* Raunk. ex Warm. = *C. flexuosum*, *C. flexuosum*, *C. inornatum*, *C. karstenii* (Vink) Baehni = *Pycnandra decandra* subsp. *coriacea* (Baill.) Swenson & Munzinger, *C. psilophyllum* (Sandwith) Baehni = *Ecclinusa psilophylla* Sandwith, *C. roxburghii* G. Don, *C. sparsiflorum* e *C. splendens*), *Gymnanthera* (18 spp.), *Aneuchrysophyllum* (sete spp.), *Afro-Chrysophyllum* (quatro spp.) e *Pleiochrysophyllum* (uma spp.), tendo como critério: o tipo da venação e do indumento da folha, a posição do estame na corola e a deiscência e indumento da antera.

No começo do século XX, Baehni (1938) realizou uma classificação simples e prática para Sapotaceae, com base na placentação, reconhecendo apenas duas subfamílias: Basitraumeae (8 gêneros.) por apresentar uma pequena cicatriz basal circular e Pleurotraumeae (*Chrysophyllum* e outros 18 gêneros) por apresentar uma cicatriz lateral longa e estreita. Esse mesmo autor não estabeleceu nenhum táxon intermediário entre as subfamílias, gêneros e espécies.

Lam (1939) realizou uma análise detalhada da obra “Mémoires sur les Sapotacées I, Système de Classification” de Baehni (1938), na qual criticou atribuir à pesagem do caráter placentação, já que *Sideroxylon tomentosum* Roxb., da Índia, apresenta uma transição entre a pequena cicatriz basal circular e a cicatriz lateral longa e estreita. Além disso, afirmou que a

nomenclatura sugerida por Baehni (1938) não estaria em concordância com as regras estabelecidas no Código Internacional de Nomenclatura Botânica. Diante disso, Lam (1939) sugeriu a divisão da família em três subfamílias: Sideroxyloideae [subdividida em três tribos: Sideroxylieae, Bumelieae (subtribo: Mastichodendrinae e Bumeliinae) e Pouterieae (subtribo: Pouteriinae e Achradotypinae)], Mimusopoideae (tribos Mimusopeae e Manilkareae) e Madhucoideae (tribos Madhuceae e Palaquieae). O autor utilizou como critérios de distinção dos taxa o seguinte conjunto de caracteres: a disposição e número das sépalas, relação entre o número de estames e o número de lobos da corola, posição dos apêndices na corola, presença de estaminódios e relação do número de carpelos com o número de lobos da corola. *Chrysophyllum* foi circunscrito à subtribo Pouteriinae juntamente com *Achrouteria* Eyma, *Bakeriella* Pierre ex Dubard, *Calocarpum* Pierre, *Ecclinusa* Mart., *Krausella* H.J. Lam., *Leptostylis* Benth., *Micropholis* (Griseb.) Pierre, *Planchonella* Pierre, *Pouteria* Aubl. e *Sebertia* Pierre ex Engl., inferências infragenéricas não foram realizadas.

Na obra “Recueil Périodique d'observations Botanique”, Aubréville (1961) acreditava que *Chrysophyllum* se encontrava numa escala de tribo ou pelo menos uma sub-tribo, devido à ampla distribuição geográfica de suas espécies. Pensando em ter uma classificação natural e mais consistente, o autor propôs uma nova circunscrição do gênero. Logo, todas as espécies que tinham correlações de caracteres “fortes”, formando grupos homogêneos, deviam ser separadas do gênero. Diante disso, as espécies de *Chrysophyllum* foram subordinadas aos gêneros: *Chloroluma* Baill., *Chrysophyllum* s.s., *Ecclinusa* Mart., *Elaeoluma* Baill., *Gambeya* Pierre, *Glycoxylon* Ducke, *Nemaluma* Baill. e *Pradosia* Liais, e novos gêneros foram estabelecidos: *Caramuri* Aubrév. & Pellegr., *Neoxythece* Aubrév. & Pellegr., *Neopometia* Aubrév. & Pellegr., e *Villocuspis* (A. DC.) Aubrév. & Pellegr. (*V. flexuosum* = *C. flexuosum*, *V. elegans* = *C. flexuosum*, *V. januariense* = *C. januariense*, *V. glaziouii* = *C. arenarium* e *V. splendens* = *C. splendens*). Logo, o gênero *Villocuspis* foi estabelecido incluindo as espécies que compartilhassem: estames inclusos, inseridos na metade do tudo da corola; anteras vilosas, com tricomas brancos e longos; venação broquidódroma e semente ovóide, com uma ampla cicatriz ventral elíptica.

Posteriormente, Aubréville (1964) manteve o tratamento proposto por Lam (1939) e ainda reconheceu outra subfamília Omphalocarpoideae (tribos: Omphalocarpeae e Pycnandreae). Adicionalmente, seis tribos (Planchonelleae, Malacanthaeae, Chrysophylleae, Kantouaeae, Lecomtedoxeae e Sarcospermeae) foram circunscritas à Sideroxyloideae. Em virtude da presença de endosperma e ausência de estaminódios, os gêneros *Chrysophyllum* e *Villocuspis* foram alocados na tribo Chrysophylleae juntamente com *Chloroluma*, *Gambeya*, *Chrysophyllum*, *Neopometia* Aubrév., *Priourella* Pierre e *Ragala* Pierre, dentre outros.

Após quase 30 anos, baseado na proposta de Lam (1939), Baehni (1965) realizou uma revisão mais detalhada para Sapotaceae, e reconheceu três subfamílias fundamentando-se, principalmente, no tamanho e posição da cicatriz na semente: Madhucoideae [dividida em 2 tribos: Madhuceae (5 subtribos e 8 grupos) e Chrysophylleae (6 subtribos e 11 grupos)], Mimusopoideae [tribos: Mimusopeae (4 subtribos e 4 grupos) e Nesolumaeae (4 subtribos e 5 grupos)] e Croixioideae [tribos: Croixieae (4 subtribos e 9 grupos) e Baillonelleae (4 subtribos e 5 grupos)]. *Chrysophyllum* ficou subordinado à subfamília Madhucoideae, tribo Chrysophylleae, subtribo Chrysophyllinae (caracterizada por apresentar cálice simples e sem apêndices dorsais), no grupo denominado pelo autor como “*Chrysophyllum*” caracterizado pela ausência de estaminódios, juntamente com o gênero *Priurella*. Além disso, o autor comentou que o gênero *Villocuspis* provavelmente seria sinônimo de *Chrysophyllum*, devido à espécie tipo (*Villocuspis flexuosum* (Mart.) Aubrév. & Pellegr.) não ser muito bem conhecida, como também argumentou que os caracteres (altura da inserção dos estames e indumento da antera) não permite distinguir *Villocuspis* como um grupo natural.

A revisão mais recente foi monografada por Pennington (1990) para a região Neotropical. Nesse tratamento, os gêneros *Achrouteria* Pierre, *Cainito* Plumier ex Adans., *Chloroluma* Baill., *Cornuella* Pierre, *Cynodendron* Baehni, *Dactimala* Rafin., *Ecclinusa* Mart. *sensu* Baehni, *Gambeya* Pierre, *Guersentia* Rafinesque, *Martiusella* Pierre, *Nycterisition* Ruiz & Pavón, *Priurella* Pierre, *Ragala* Pierre e *Villocuspis* (A.DC.) Aubrév. & Pellegr. foram sinonimizados à *Chrysophyllum*, com base na ausência de estipulas, estaminódios raramente presentes, ovário geralmente 5-locular, cotilédones foliáceos, radícula exserta e endosperma conspícuo. Nesse contexto, *Chrysophyllum* foi subdividido em cinco seções: *Aneuchrysophyllum* (11 espécies), *Chrysophyllum* (17 espécies), *Priurella* (cinco espécies), *Ragala* (quatro espécies) e *Villocuspis* (seis espécies: *C. arenarium*, *C. flexuosum*, *C. januariense*, *C. paranaense* T.D. Penn., *C. sparsiflorum* e *C. splendens*). Os principais critérios utilizados para definir as seções foram: a disposição das folhas, posição dos estames do tubo da corola, presença ou ausência de tricomas nas anteras, sépalas acrescentes ou não na frutificação e cicatriz da semente. A seção *Villocuspis* foi caracterizada por apresentar folhas alternas dísticas, estames fixados no meio ou abaixo da metade do tubo da corola, anteras vilosas e sementes com cicatriz adaxial ou basi-ventral.

No ano seguinte, Pennington (1991) em sua obra “The genera of Sapotaceae” organizou a família em cinco tribos: Chrysophylleae, Isonandreae, Mimusopeae, Omphalocarpeae e Sideroxyloae, com base nos diferentes tipos de organização floral, tipo de cálice (uni ou bisseriado), número de estames em relação ao número de lobos da corola, presença ou ausência de estaminódios, apêndices do lóbulo da corola e posição da cicatriz da

semente. *Chrysophyllum* ficou subordinado à tribo Chrysophylleae por apresentar corola tubular, com lobos quase eretos, estames inclusos fixados na base ou no ápice do tubo da corola e estaminódios geralmente ausentes. Outra modificação proposta pelo autor foi a sinonimização de *Astrogambeya* Aubrév. & Pellegr., *Dactimala* Rafinesque, *Donella* Pierre ex Baillon, *Gambeyobotry* Aubrév. e *Planchonella* Pierre (sensu Baehni) à *Chrysophyllum* e a adição da seção *Donella*, cujos representantes estão restritos à África, Índia e sul da Ásia. Desse modo, o gênero *Chrysophyllum* ficou subdividido em seis seções: *Aneuchrysophyllum*, *Chrysophyllum*, *Donella*, *Priurella*, *Ragala* e *Villocuspis*.

2.2. Estudos moleculares de Sapotaceae/Chrysophylloideae com enfoque em *Chrysophyllum* L.

Embora o gênero *Chrysophyllum* contribua com um expressivo número de espécies, ainda são poucos os trabalhos com enfoque molecular (PETERSEN et al., 2012). A maioria das análises moleculares em que o gênero está inserido consiste em propostas para Sapotaceae ou a subfamília Chrysophylloideae (ANDERBERG et al., 2002; ANDERBERG e SWENSON, 2003; BARTISH et al., 2005; SWENSON e ANDERBERG, 2005; SWENSON et al., 2007, 2008a, 2008b, 2013). Além disso, muitos desses trabalhos estão sendo desenvolvidos com poucas espécies de *Chrysophyllum* e que geralmente ocorrem na Austrália.

As primeiras análises conduzidas por Anderber et al. (2002) resultaram na resolução do clado Ericales. Sapotaceae emergiu como ordem-irmã de Lecythidaceae em um grupo fracamente sustentado (60% de *bootstrap*), contudo, suportado morfológicamente pelo compartilhamento dos nós trilacunares e endosperma nucleares.

Anderberg e Swenson (2003), baseando-se no tratamento de Pennington (1991), evidenciaram três linhagens evolutivas para família: Sarcosperma como grupo irmão de todas as outras Sapotaceae, um grande clado composto pelas tribos Isonandreae, Mimosopeae e Sideroxyloae, e o último clado formado pelas tribos Chrysophylleae e Omphalocarpeae, bem como por *Diploon* da tribo Sideroxyloae. Além disso, observaram que as espécies de *Chrysophyllum* não formam um grupo monofilético. Evidenciaram, também, um clado fortemente sustentado (94%-96%) no qual *C. bangweolense* R.E.Fr., *C. ogowense* A.Chev., *C. pruniforme* Engl. e *C. roxburghii* formam uma politomia.

Dois anos depois, Swenson e Anderberg (2005), considerando dados morfológicos e moleculares, corroboram com seus resultados anteriores e propõem a mais atual classificação taxonômica para Sapotaceae, subdividindo-a em três subfamílias: Chrysophylloideae (correspondendo às tribos de Pennington (1991): Chrysophylleae e Omphalocarpeae),

Sapotoideae (Isonandreae, Mimusopeae e Sideroxyleae) e Sarcospermatoideae (Sarcosperma - foi considerada pelos autores como membro de Sapotaceae, por ter se mostrado um táxon irmão para família). Além disso, evidenciaram que os gêneros *Chrysophyllum* e *Pouteria* não são monofiléticos em suas definições atuais, devido à formação de grupos de espécies posicionadas em linhagens bem distintas e que, provavelmente, alguns desses grupos podem representar seções ou gêneros anteriormente válidos, mas que foram sinonimizados sob *Chrysophyllum* e *Pouteria*.

Bartish et al. (2005), no trabalho de Sapotaceae para Austrália e Nova Caledônia, realizaram uma análise jackknife com sequências de DNA ribossômico nuclear e evidenciam que os gêneros *Chrysophyllum*, *Englerophytum* K. Krause e *Pradosia* não apresentam relação com as espécies de Sapotaceae Australasianas.

No estudo sobre filogenia multi-genética e morfológica para subfamília Chrysophylloideae, utilizando métodos de máxima parcimônia e inferência bayesiana, realizado por Swenson et al. (2008a), foi possível observar que *Chrysophyllum*, *Pouteria* e *Pradosia*, bem como algumas seções dentro de *Chrysophyllum* e *Pouteria*, são polifiléticas. Os autores sugerem que os gêneros *Donella* Pierre ex Baill., *Gambeya* Pierre e *Martiusella* Pierre segregados a *Chrysophyllum*, provavelmente precisem ser elevados a *status* genérico. Além disso, acreditam que a espécie *Chrysophyllum cuneifolium* (Rudge) A. DC. pode ter se originado de um evento de hibridação entre continentes onde o genoma materno (cpDNA) vem da América do Sul e o genoma nuclear vem da África.

Outro estudo realizado por Swenson et al. (2013), em análises moleculares e morfológicas para a subfamília Chrysophylloideae na Oceania e no Sudeste Asiático, encontrou um forte apoio filogenético na proposta em que *Chrysophyllum* e *Pouteria* não estão presentes na Australásia.

A análise molecular realizada por Faria et al. (2017) para as espécies Neotropicais da subfamília Chrysophylloideae incluiu uma maior amostragem para os gêneros *Chrysophyllum* (10 ssp.) e *Pouteria* (31 ssp.). Os dados obtidos corroboram a hipótese de Swenson et al. (2005; 2008), ratificando que os limites genéricos de *Chrysophyllum* e *Pouteria* ainda são insustentáveis. Além disso, sugerem o restabelecimento genérico de *Chrysophyllum* seção *Ragala* e *Priourella*, como também dos antigos gêneros *Achrouteria*, *Cornuella*, *Martiusella* e *Nemaluma*. Já as circunscrições de *Chrysophyllum* seção *Chrysophyllum* e *Villocuspis* permanecem incertas e segundo os autores devem ser exploradas utilizando uma amostragem maior de taxa.

Alguns trabalhos foram realizados com enfoque em algumas espécies de *Chrysophyllum*, como o de Petersen et al. (2012) que verificaram a origem e os taxa

relacionados a *C. cainito* L., através de sequências de ITS ribossômicas nucleares. Após as análises foi possível hipotetizar que *C. cainito* é nativo do sul da Mesoamérica e que sua ocorrência no norte da Mesoamérica e para as Antilhas foi mediada pelo cultivo humano. Também observaram que *C. cainito* está mais relacionado a um clado contendo *C. argenteum* espécie da América Central e do Sul. Outro trabalho foi realizado por Rodrigues et al. (2013) para *C. gonocarpum* (Mart. & Eichler ex Miq.) Engl. com o intuito de isolar e caracterizar 8 loci de microssatélites. O teste de amplificação cruzada mostrou que alguns *primers* poderiam ser transferidos com sucesso para *C. marginatum* (Hook. & Arn.) Radlk. (Cgon21, Cgon34, Cgon52 e Cgon57) e *C. splendens* (Cgon34, Cgon52 e Cgon57) e que os microssatélites podem ser usados para avaliar a diversidade genética e a estrutura populacional de *C. gonocarpum*.

Análises moleculares vêm sendo realizadas com enfoque em outros gêneros de Sapotaceae, como *Manilkara* (ARMSTRONG, 2010), *Pouteria* (TRIONO et al., 2007; ALVES-ARAÚJO, 2012) e *Pradosia* (TERRA-ARAÚJO et al., 2015), evidenciando que muitos gêneros da família ainda precisam ser redefinidos para melhor corresponder a grupos naturais, com exceção de *Pradosia* que é monofilético em sua circunscrição atual (TERRA-ARAÚJO, 2015).

As informações moleculares de marcadores genéticos mais frequentemente utilizados para análise filogenética referente à subfamília Chrysophylloideae e família Sapotaceae são das regiões ITS e ETS (ALVES-ARAÚJO, 2012; SWENSON et al., 2007, 2008a, 2008b, 2013; TERRA-ARAÚJO et al., 2015; FARIA et al. 2017). Em uma análise realizada por Vivas et al. (2014), para verificar o melhor marcador para a identificação de espécies de Sapotaceae na floresta Atlântica, foi constatado que a região espacial transcrita interna ribossomal nuclear - ITS forneceu os melhores resultados (como esperado devido à sua maior utilização), seguidos por quatro regiões do DNA plastidial: *trnH*, *psbA*, *matK*, e *rbcL*. Além disso, foi observado que a análise combinada de dois, três ou quatro marcadores não resultou em taxas de discriminação mais elevadas.

2.3. Reconstrução do caráter morfoanatômico para Sapotaceae

Dados morfológicos e anatômicos quando utilizados para reconstrução de um caráter nas análises filogenéticas fornecem informações que auxiliam a desvendar a evolução de um grupo específico (LENS et al., 2007). Atualmente, muitos trabalhos filogenéticos (SWENSON et al., 2008a, 2008b; SIMÕES et al., 2010; SWENSON et al., 2013; TERRA-ARAÚJO et al., 2015; SIMÕES et al., 2016) utilizam os dados morfológicos para o mapeamento de um caráter na filogenia molecular, visando compreender padrões de evolução

e ter um maior suporte nas conclusões do cladograma. Em níveis da hierarquia taxonômicos mais baixos, subtribos e gêneros, a morfoanatomia pode fornecer conjuntos de caracteres relativamente estáveis que atuam como diagnósticos na delimitação dos clados (SIMÕES et al., 2010; SIMÕES et al., 2016).

Os caracteres utilizados na reconstrução filogenética podem ter valor qualitativo ou quantitativo. Swenson et al. (2007) em sua análise para Chrysophylloideae (Sapotaceae) da Austrália, Nova Caledônia e Ilhas do Pacífico, mapearam o cladograma com oito caracteres qualitativos e evidenciaram que a posição da inserção do estame dentro do tubo da corola é uma forte indicação de relação genérica. Além disso, observaram que é raro encontrar uma única sinapomorfia para determinado clado e que os gêneros devem ser distinguidos com combinações de estados de caracteres.

Swenson et al. (2008a) mapearam oito caracteres qualitativos em uma das árvores mais parcimoniosas de Chrysophylloideae e indicaram provavelmente algumas simplesiomorfias: flores 5-meras, estames inseridos no tubo da corola, estaminódio, sementes com cotilédones foliáceos, radícula exserta e endosperma.

No mesmo ano, Swenson et al. (2008b) utilizaram 42 caracteres qualitativos e quantitativos para reconstrução da filogenia de *Niemeyera* na Nova Caledônia e evidenciaram que as mudanças evolutivas ocorreram várias vezes em dois caracteres amplamente utilizados, flores anisómeras e o número e disposição dos estames. Terra-Araujo et al. (2015) conseguiram distinguir prontamente três clados de *Pradosia* (Sapotaceae) utilizando caracteres morfológicos qualitativos e quantitativos, tais como: propriedade da casca, disposição da nervura principal, distribuição dos fascículos, tipo de habitat, tamanho e cor da corola.

Swenson et al. (2013) utilizaram oito caracteres morfológicos que foram traçados em uma árvore de consenso de regra majoritária condensada para identificar combinações de caracteres diagnósticos para os gêneros de Chrysophylloideae. Evidenciaram que a venações areoladas, o indumento na superfície interna das sépalas e o tipo estilete são caracteres que contém sinal filogenético forte e que são úteis para circunscrição dos grupos. Também encontram uma combinação de três caracteres úteis que contém informações filogenéticas fortes: distribuição de cotilédones foliáceos, a ausência ou presença de uma radícula desprendida e a ausência ou presença de endosperma. Já os tipos florais e inserção do estame são considerados caracteres parcialmente subjetivos, mas que podem estar restritos a alguns gêneros.

Na reconstrução de caráter realizada por Faria et al. (2017) para Chrysophylloideae, foram avaliadas a utilidade de 17 caracteres morfológicos. O número de peças de cada

verticilo floral, a forma da corola, a margem da corola, o nível de inserção do estame e as características das sementes mostraram uma boa congruência com os clados recuperados.

Pesquisas anatômicas foram realizadas para *Diploon* (LIMA, 2019), *Manilkara* (ALMEIDA-Jr. et al., 2012) e *Pouteria* (MONTEIRO et al., 2007). Apesar disso, não encontramos avaliações que incluem dados anatômicos na reconstrução do caráter em estudos filogenéticos de Sapotaceae. No entanto, tem sido constatado que a combinação de dados moleculares e morfológicos pode melhorar a compreensão da evolução de diversos grupos vegetais, como observado em Acanthaceae (TRIPP e FATIMAH, 2012), Brassicaceae (PAKSOY et al., 2016), Malpighiaceae (CAMERON et al., 2001; DAVIS et al., 2001) e Restionaceae (LINDER, 2000).

2.4. Status de conservação e distribuição geográfica potencial de espécies ameaçadas – *Chrysophyllum januariense* (C. sect. *Villocuspis*)

Cerca de 20% da área de abrangência da floresta Amazônica foram desmatadas (IBGE, 2016) e restam apenas 7% da cobertura original da floresta Atlântica (Fundação SOS Mata Atlântica, 2014). Essa redução no percentual de cobertura vegetal têm promovido graves alterações na paisagem, sendo um dos fatores responsáveis pelo elevado número (14 spp.) de espécies de *Chrysophyllum* atualmente inseridas na lista de espécies ameaçadas de extinção da IUCN, o que corresponde a cerca de 50% dos taxa encontrados no Brasil, sendo a maioria dessas espécies encontradas no domínio fitogeográfico das florestas Amazônica e Atlântica. Além disso, a intensificação da exploração econômica dessas espécies, principalmente devido ao fornecimento de látex, frutos e utilização da sua madeira, também contribui para o declínio das populações das espécies exploradas (FONSECA et al., 2008; SOUSA e LORENZI, 2012).

Chrysophyllum seção *Villocuspis* compreende seis espécies brasileiras, com cinco endemismos para a floresta Atlântica (CARNEIRO et al., 2015), bioma que vem sendo severamente degradado. Cinco dos seus representantes estão inseridos na lista de espécies ameaçadas de extinção da IUCN, sendo a espécie *C. januariense* categorizada como extinta (PIRES, 1998). A última atualização da lista vermelha de espécies ameaçadas de extinção resultou em mais de 8000 espécies de plantas incluídas em diferentes categorias de ameaça de extinção (BAILLIE e BUTCHER, 2012). Nesta lista, as espécies são categorizadas após uma ampla consulta quantitativa que considera o número de indivíduos por espécie, o tamanho e distribuição da população, a área de distribuição geográfica e grau de fragmentação dos habitats (IUCN, 2001). *Chrysophyllum januariense* foi descrita por Eichler (1870) baseado em uma coleção (*Glaziou 2558* de 1867) encontrada na floresta de Laranjinhas, Rio de

Janeiro, Brasil. Embora a distribuição geográfica de *C. januariense* tenha sido ampliada a partir de novos registros de ocorrência para os estados da Bahia e Espírito Santo, por não encontrar a espécie em excursão botânica à floresta de Laranjinhas, Pires (1998), optou por categorizar *C. januariense* como extinta, *status* atualmente mantido pela IUCN (2018).

Espécies preditoras de vulnerabilidade e precursoras à extinção são geralmente reconhecidas como raras (GOERCK, 1997). A identificação de espécies raras é feita a partir da análise de diversos fatores, entre eles a distribuição geográfica, o tamanho da população e a ocorrência de espécies generalistas e especialistas (FONTANA e SEVEGNANI, 2012). Quando identificadas, essas espécies demandam prioridade em ações de conservação, uma vez que sua ocorrência está limitada a pequenas populações, o que eleva o risco de extinção dessas espécies, em consequência da perda da variabilidade genética, estocasticidade demográfica e flutuações ambientais (GASTON, 1998).

Nesse contexto, a modelagem preditiva de distribuição geográfica consiste em uma ferramenta importante em estudos de conservação de espécies raras (SOLANO e FERIA, 2007; GIOVANELLI et al., 2008). Modelos preditivos de distribuição de espécies indicam áreas de potencial ocorrência dos taxa ameaçados de extinção, com base em pontos de ocorrência conhecidos e dados ambientais (climáticos e topográficos) (ARAÚJO e GUIBAN, 2006), através da aplicação de algoritmos que permitem essa modelagem do nicho, tais como: Bioclim (Sistema de Previsão Bioclimática), Domain (Distância ambiental), GARP (Algoritmo Genético para Produção de Conjuntos de Regras), Maxente (Máxima Entropia), entre outros (PETERSON, 2001).

Dessa forma, diversos modelos de espécies têm sido utilizados em uma série de estudos que visam prever áreas de possível ocorrência e indicar áreas prioritárias para conservação (FILARDI et al., 2007; KAMINO, 2009; CANCIAN, 2012; MOURA-JUNIOR et al., 2016). A modelagem de distribuição para espécies de *Manilkara* Adans. (Sapotaceae) ocorrentes no Nordeste do Brasil revelou que o gênero inclui espécies com distribuição disjunta (*Manilkara elata* (Allemão ex Miq.) Monach.), restrita (*M. dardanoi* Ducke, *M. decrescens* T.D. Penn., *M. maxima* T.D. Penn. e *M. multifida* T.D. Penn.) e de grande amplitude de ocorrência (*M. salzmannii* (A.DC.) H.J. Lam), organizadas nos padrões Amazônico, Amazônico-Atlântico, Atlântico e Caatinga-Cerrado, além de evidenciar que as áreas potenciais de ocorrência das espécies são mais amplas do que seus registros de ocorrência (ALMEIDA-Jr., 2010).

Diante do exposto, ressalta-se que o mapa preditivo indica onde os esforços de conservação devem ser aplicados, dando melhores alternativas aos pesquisadores em menos tempo e com menor custo (SOARES, 2015). Facilitando assim, a busca por novas áreas que

apresentam condições favoráveis a ocorrências dessas espécies raras, endêmicas e/ou ameaçadas (GASTON, 1998). Além de viabilizar a identificação de áreas que necessitam de maior atenção para conservação (GIULIETTI et al., 2009; MARTINELLI et al., 2014).

2.5. Referência bibliográfica

ALMEIDA-JR, E. B. **Diversidade de *Manilkara* Adans. (Sapotaceae) para o Nordeste do Brasil**. 2010. 157 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2010.

ALMEIDA-JR, E.B.; ARAUJO, J.S.; SANTOS-FILHO, F.S. ; ZICKEL, C.S. Leaf morphology and anatomy of *Manilkara* Adans. (Sapotaceae) from Northeastern Brazil. **Plant Syst Evol.**, v. 299, p. 1-9, 2013.

ALVES-ARAÚJO, A. **Taxonomia e Filogenia de *Pouteria* Aubl. (Sapotaceae) na Mata Atlântica setentrional**. 2012. 282 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2012.

ANDERBERG, A.A.; RYDIN, C.; KALLERSJO, M. Phylogenetic relationships in the order Ericales s.l.: Analyses of molecular data from five genes from the plastid and mitochondrial genomes. **American Journal of Botany**, v. 89, n. 4, p. 677–687, abr. 2002.

ANDERBERG, A. A.; SWENSON, U. L. F. Evolutionary lineages in Sapotaceae (Ericales): A cladistic analysis based on ndhF sequence data. **International Journal of Plant Sciences**, v. 164, n. 5, p. 763-773, abr. 2003.

APG IV. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 1, p. 1-20, 2016.

ARAÚJO, M. B.; GUISAN, A. Five (or so) challenges for species distribution modelling. **Journal of Biogeography**, v. 33, n. 10, p. 1677-1688, ago. 2006.

ARMSTRONG, K. **Systematics and biogeography of the pantropical genus *Manilkara* Adans.(Sapotaceae)**. 2010. 226 f. Tese (Doutor de Filosofia) - Institute of Evolutionary Biology School of Biological Sciences, University of Edinburgh & Royal Botanic Garden Edinburgh, 2010.

AUBRÉVILLE, A. Notes sur les Sapotacées africaines et sudaméricaines. In: HUMBERT, H. AUBRÉVILLE, A. **Adansonia**. Paris, v. 1, n. 1, 1961. p. 6-92.

AUBRÉVILLE, A. Les Sapotacées taxonomie et phytogéographie. **Adansonia, Mémoire**, 1964. 157 p.

BAEHNI, C. Mémoires sur les Sapotacées i: Système de classification. 1 ed. **Candollea**, p. 394-508, 1938.

BAEHNI, C. Mémoires sur les sapotacées iii: Inventaire des genres. 3 ed. **Boissiera**, 1965. 262 p.

BAILLIE, J.E.M.; BUTCHER, E.R. **Priceless or Worthless? The world's most threatened species**. Zoological Society of London, United Kingdom, 2012.

BARROSO, G. et al. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. 1 ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S.A, 1978. 255 p.

BARTISH, I. V.; SWENSON, U. L. F.; MUNZINGER, J.; ANDERBERG, A. A. Phylogenetic relationships among New Caledonian Sapotaceae (Ericales): molecular evidence for generic polyphyly and repeated dispersal. **American Journal of Botany**, v. 92, n. 4, p. 667–673, 2005.

CAMERON K. M.; CHASE, M. W.; ANDERSON, W. R.; HILLS, H. G. Molecular systematics of Malpighiaceae: evidence from plastid RBCL and MATK sequences. **American Journal of Botany**, v. 88, n. 10, p. 1847–1862, 2001.

CANCIAN, L.F. **Modelagem de distribuição geográfica potencial de macrófitas aquáticas em bacias hidrográficas**. 2012. 86 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, 2012.

CARNEIRO, C. E.; ALVES-ARAÚJO, A.; ALMEIDA JR., E. B.; TERRA-ARAÚJO, M. H. **Sapotaceae/Chrysophyllum** in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB217>>. Acesso em: 05 abr. 2017.

DAVIS, C. C.; ANDERSON, W. R.; DONOGHUE, M. J.. Phylogeny of Malpighiaceae: evidence from chloroplast *ndhF* and *trnL-F* nucleotide sequences. **American Journal of Botany**, v. 88, p. 1830–1846, 2001.

DE CANDOLLE, A. Sapotaceae. In: DE CANDOLLE, A. **Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis**. 8 ed. Parisii: Sumptibus Sociorum Treuttel et Würtz, 1844. p. 154-208.

EICHLER, A. W. *Chrysophyllum* in: **Videnskabelige Meddelelser fra den naturhistoriske Forening i Kjöbenhavn**. Kjöbenhavn :Selskabets Bestyrelse, 1870. p. 206-209.

ENGLER, A. Beiträge zur Kenntnis der Sapotaceae. In: ENGLER, A. **Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie**. Library of the university of Illinois, v. 12, 1890. p. 496-525.

FARIA, A. D.; PIRANI, J. R.; RIBEIRO, J. E. L. D. S.; NYLINDER, S.; TERRA-ARAÚJO, M. H.; VIEIRA, P. P.; SWENSON, U. L. F. Towards a natural classification of Sapotaceae subfamily Chrysophylloideae in the Neotropics. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 185, p. 27–55, 2017.

FILARDI, F. L. R.; GARCIA, F. C. P.; CARVALHO-OKANO, R. M.; RODRIGUES, I. M. C. Padrões de distribuição geográfica de espécies arbóreas de Leguminosae ocorrentes no cerrado. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 1116-1118, 2007.

FONSECA, M. G.; VIDAL, E.; SANTOS, F. A. M. Efeito da exploração madeireira sobre o número de indivíduos férteis de três espécies arbóreas comerciais na Amazônia oriental. **Acta Amazonica**, v. 38, n. 4, p. 681-686, 2008.

FONTANA, C.; SEVEGNANI, L. Quais são as espécies arbóreas comuns da Floresta Estacional Decidual em Santa Catarina? **Revista de Estudos Ambientais**, v. 14, n. 1, p. 60-73, 2012.

FUNDAÇÃO SOS MATA ATLÂNTICA, 2014. ATLAS DOS REMANESCENTES FLORESTAIS DA MATA ATLÂNTICA PERÍODO 2012-2013. Disponível em:

<http://mapas.sosma.org.br/site_media/download/atlas_2012-2013_relatorio_tecnico_2014.pdf> Acesso em: 03 de fev. 2017.

GASTON, K. J. Rarity as double jeopardy. **Nature**, v. 394, p. 229-230, jul. 1998.

GIOVANELLI, J. G. R.; ARAUJO, C. O.; HADDAD, C. F. B.; ALEXANDRINO, J. Modelagem do nicho ecológico de *Phyllomedusa ayeaye* (Anura: Hylidae): previsão de novas áreas de ocorrência para uma espécie rara. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 3, n. 2, p. 59-65, ago. 2008.

GIULIETTI, A. M.; RAPINI, A.; ANDRADE, M.J.G.; QUEIROZ, L.P.; SILVA, J.M.C. **Plantas raras do Brasil**. Belo Horizonte, MG: Conservação Internacional, 2009. 496 p. : il., fots. color., mapas; 26 cm.

GOVAERTS, R.; FRODIN, D. G.; PENNINGTON, T. D. **World checklist and bibliography of Sapotaceae**. Minnesota: Royal Botanic Gardens, 2001. 361 p.

GOERCK, J. Patterns of rarity in the birds of the Atlantic Forest of Brazil. **Conservation Biology**, Boston, v. 11, n. 1, p. 112–118, 1997.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Indicadores de Desenvolvimento Sustentável: Brasil 2010. Rio de Janeiro, RJ. n. 7. Disponível em: <https://ww2.ibge.gov.br/home/geociencias/recursosnaturais/ids/default_2010.shtm>. Acesso: 27 out 2018.

IUCN - International Union for Conservation of Nature.. **IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1**. IUCN Species Survival Commission. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, 2001.

IUCN Red List of Threatened Species. Version 2018-1. Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em: 02 out 2018.

KAMINO, L. H. Y. **Modelos de distribuição geográfica potencial: aplicação com plantas ameaçadas de extinção da floresta Atlântica**. 2009. 133f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2009.

- LAM, H. J. On the system of the Sapotaceae, with some remarks on taxonomical methods. **Recueil Travaux botaniques néerlandais**, v. 36, p. 509–525, 1939.
- LAWRENCE, G. H. M.. **Taxonomia das plantas vasculares**. 2 ed. Lisboa: Fundação Caloste Gulbenkiar, 1951. 296 p.
- LENS, F. et al. The role of wood anatomy in phylogeny reconstruction of Ericales. **Cladistics**, v. 23, p. 229–254, 2007.
- LIMA, R. G. V. N.; Lima, L. F.; Ferreira, A. C.; Araújo, J. S.; Zickel, C. S.. Leaf Morphoanatomy of *Diploon Cronquist* (Sapotaceae Juss.). **Biota Neotropica**, v. 19, n. 1, e20180600, 2019.
- LINDER, H. P. Vicariance, climate change, anatomy and phylogeny of Restionaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 134, p. 159–177, 2000.
- LINNAEUS, C. **Species Plantarum** - exhibentes plantas rite cognitatas, ad genera relatas, cum differentiis specificis, nominibus trivialibus, synonymis selectis, locis natalibus, secundum systema sexuale digestas. Holmiae: Impensis Laurentii Salvi, v. 1, p. 192, 1753.
- MARTINELLI, G.; MESSINA, T.; FILHO, L. dos S. **Red Book of the Flora of Brazil**. Rare Plants of the Cerrado, 2014. 320 p.
- MIQUEL, F. A. W. Sapotaceae. In: MARTIUS, C. F. P. **Flora Brasiliensis**: enumeratio plantarum in Brasilia hactenus detectarum : quas suis aliorumque botanicorum studiis descriptas et methodo naturali digestas partim icone illustratas. Lipsiae apud Frid. Fleischer in Comm., v. 7, n. 32, jan 1863. p. 37 – 118.
- MOURA-JÚNIOR, E. G.; VALENTIN-DE-SOUZA, R. L.; MILHOMENS, L. B. S. New record of *Pithophora roettleri* (Roth) Wittrock, 1877 (Chlorophyta: Pithophoraceae) for the Sao Francisco River basin and its potential geographic distribution in Brazil. **CheckList**, v. 12, n. 3, p. 1-7, 2016.

- MONTEIRO, M.H.D.A.; NEVES, L.J.; ANDREATA, R.H.P. Taxonomia e anatomia das espécies de *Pouteria* Aublet (Sapotaceae) do estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Pesquisas, Botânica**, v. 58, p. 7-118, 2007.
- PAKSOY, M. Y., SEVINDIK, E., COŞKUN, F. Phylogenetic relationships based on morphological and anatomical characters on *Ricotia* L. Genus (Brassicaceae) growing in Turkey. **Bangladesh J. Bot.**, v. 45, n. 5, p. 971-977, 2016.
- PENNINGTON, T. D. **Flora Neotropica**: Monograph 52, Sapotaceae. New York: The New York Botanical Garden, abr. 1990. 770 p.
- PENNINGTON, T. D. **The genera of sapotaceae**. New York: Royal Botanic Gardens, Kew, 1991. 295 p.
- PETERSEN, J. J. et al. Origins and close relatives of a semi-domesticated Neotropical fruit tree: *Chrysophyllum cainito* (Sapotaceae). **American Journal of Botany**, v. 99, n. 3, p. 585–604, jun. 2012.
- PETERSON, A.T. Predicting geographic distribution based on ecological niche modeling. **Condor** v. 103, p.599-605, 2001.
- PIRES O'BRIEN, J. *Chrysophyllum januariense*. The IUCN Red List of Threatened Species 1998: e.T35379A9924296. Disponível:
<<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1998.RLTS.T35379A9924296.en>>. Acesso: 02 out. 2018.
- RADLKOFER, L. Sapotaceae. In: DURAND, TH. **Index Generum Phanerogamorum**, Bruxellis :Sumptibus auctoris, 1888. 252- 257p.
- RODRIGUES, L. A.; RUAS, E. A.; SIGNORI, N. C.; COSTA, B. F.; FARIAS-MISSÃO, D. C. L.; VIEIRA, B. G.; CONSON, A. R. O.; CHAVES, C. L.; DELFINI, J.; RUAS, C. F.; RUAS, P. M. Isolation and characterization of 8 microsatellite loci from *Chrysophyllum gonocarpum* (Sapotaceae). **Genetics and Molecular Research**, v. 12, n. 1, p. 416-419, ago. 2013.

SIMÕES, A.O.; ENDRESS, M.E.; CONTI, E. Systematics and character evolution of Tabernaemontaneae based on molecular and morphological evidence. **Taxon** v. 59, p. 772-790, 2010.

SIMÕES, A.O.; KINOSHITA, L.S.; KOCH, I.; SILVA, M.J.; ENDRESS, M.E. Systematics and character evolution of Vinceae (Apocynaceae). **Taxon** v. 65, n.1, p. 99-122, 2016.

SOARES, G. R. **Modelagem de adequabilidade ambiental de *Nirodia belphegor* (Lepidoptera: Riodinidae)**. 2015. 53 f. Dissertação (Mestrado em Análise e Modelagem de Sistemas Ambientais) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2015.

SOLANO, E.; FERIA, T. P. Ecological niche modeling and geographic distribution of the genus *Polianthes* L. (Agavaceae) in Mexico: using niche modeling to improve assessments of risk status. **Biodiversity and Conservation**, v. 16, p. 1885-1900, 2007.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3ª ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa, São Paulo, 2012, p.550-552.

SWENSON, U. L. F.; ANDERBERG, A. A. Phylogeny, character evolution, and classification of Sapotaceae (Ericales). **Cladistics**, v. 21, n. 2, p. 101-130, fev. 2005.

SWENSON, U. L. F.; BARTISH, I. V.; MUNZINGER, J. Phylogeny, diagnostic characters and generic limitation of Australasian Chrysophylloideae (Sapotaceae, Ericales): Evidence from ITS sequence data and morphology. **Cladistics**, v. 23, n. 3, p. 201-228, 2007.

SWENSON, U. L. F.; RICHARDSON, J. E.; BARTISH, I. V. Multi-gene phylogeny of the pantropical subfamily Chrysophylloideae (Sapotaceae): Evidence of generic polyphyly and extensive morphological homoplasy. **Cladistics**, v. 24, n. 6, p. 1006-1031, jul. 2008a.

SWENSON, U. L. F.; LOWRYII, P.; MUNZINGER, J.; RYDIN, C.; BARTISH, I. Phylogeny and generic limits in the *Niemeyera* complex of New Caledonian Sapotaceae: evidence of multiple origins of the anisomerous flower. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 49, n. 3, p. 909-929, out. 2008b.

SWENSON, U. L. F.; NYLINDER, S.; MUNZINGER, J. Towards a natural classification of Sapotaceae subfamily Chrysophylloideae in Oceania and Southeast Asia based on nuclear sequence data. **Taxon**, v. 62, n. 4, p. 746-770, 2013.

TERRA-ARAUJO, M. H.; FARIA, A. D.; VICENTINI, A.; NYLINDER, S.; SWENSON, U. L. F. Species tree phylogeny and biogeography of the Neotropical genus *Pradosia* (Sapotaceae, Chrysophylloideae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 87, p. 1-13, jul. 2015.

THE PLANT LIST 2013. Version 1.1. Published on the Internet; Disponível em: <<http://www.theplantlist.org/>> Acesso em: 02 out. 2018.

TRIONO, T.; BROWN, A. H. D.; WEST, J. G.; CRISP, M. D. A phylogeny of *Pouteria* (Sapotaceae) from Malesia and Australasia. **Australian Systematic Botany**, v. 20, n. 2, p. 107-118, abr. 2007.

TRIPP, E. A.; FATIMAH, S. Comparative anatomy, morphology, and molecular phylogenetics of the African genus *Satanocrater* (Acanthaceae). **American Journal of Botany**, v. 99, n. 6, p. 967-982, 2012.

VIVAS, C. V.; MORAES, R. C. S.; ALVES-ARAÚJO, A.; ALVES, M.; MARIANO-NETO, E.; VAN DEN BERG, C.; GAIOTTI, F. A. DNA barcoding in Atlantic Forest plants: What is the best marker for Sapotaceae species identification? **Genetics and Molecular Biology**, v. 37, n. 4, p. 662-670, jul. 2014.

3. CAPÍTULO I

Filogenia de *Chrysophyllum* L. (Sapotaceae) com ênfase em *C. sect. Villocuspis* A. DC.

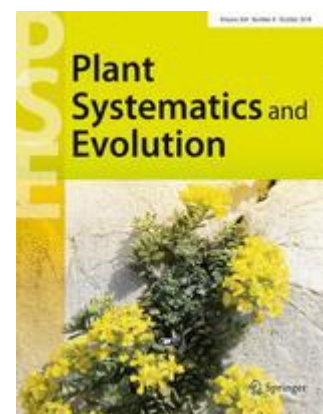
Renata Gabriela Vila Nova de Lima^{1*}, Liliane Ferreira Lima¹, Josiane Silva Araújo², André Olmos Simões³ e Carmen Silvia Zickel¹

¹ Departamento de biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE 52171-900, Brasil.

² Departamento de biologia, Universidade Estadual do Piauí, Floriano, PI 64800-000, Brasil.

³ Departamento de biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP 13083-970, Brasil.

*renatagvn@hotmail.com



A ser submetido para Plant Systematics and Evolution – Qualis B1

Resumo

Chrysophyllum é um gênero parafilético que abrange 97 espécies circunscritas em seis seções. A seção *Villocuspis* A.DC., representada por seis espécies encontradas na floresta Atlântica brasileira e caracterizadas por apresentar filotaxia alterna dística, estames fixados no meio ou abaixo do tubo da corola e anteras vilosas, seja monofilética. Nesse sentido, fornecemos uma hipótese filogenética para *Chrysophyllum*, com ênfase na seção *Villocuspis*. Para tal, foram utilizadas sequências moleculares das regiões nucleares (ETS e ITS) e plastidiais (*trnH-psbA* e *trnS-trnG*). Nossos resultados apoiam que o gênero *Chrysophyllum* s.s. é monofilético incluindo apenas as seções *Chrysophyllum* e *Villocuspis*. A filotaxia alterna-dística, semente com cicatriz adaxial ou basi-ventral ampla e ausência de esclereídes foram reconstruídas como possíveis sinapomorfias para o gênero *Chrysophyllum*. A seção *Villocuspis* somente pode ser considerada monofilética com a inclusão de *C. rufum*. Além disso, evidenciamos que as espécies endêmicas da floresta Atlântica formam um clado com alto suporte (PP = 1; BS = 99). A inserção dos estames na base ou na porção mediana do tubo da corola, antera vilosa e o contorno da nervura principal plano-convexo são sinapomorfias potenciais para seção *Villocuspis*. Os membros da seção *Chrysophyllum* formam dois grupos, evidenciando que essa seção é parafilética. Apesar disso, espécies de *C. sect. Chrysophyllum* estão filogeneticamente relacionadas com à secção *Villocuspis*. Já as secções *Aneuchrysophyllum*, *Priourella* e *Ragala* se mostraram monofiléticas e, portanto, requerem reestabelecimento genérico. O gênero *Diploon*, monoespecífico, deve ser mantido, pois consiste em um grupo irmão de *Chrysophyllum* s.s. e os gêneros *Elaeoluma* e *Ecclinusa*, monofiléticos, apresentam relações com *Ragala*.

Palavras-chave: Filogenia, nrDNA, floresta Atlântica e Chrysophylloideae.

Abstract

Chrysophyllum is a genus paraphyletic that encompasses 97 species circumscribed in six sections. We believe that the section *Villocuspis* represented by six species found in the Brazilian Atlantic forest and characterized by an altered phytotaxia, stamens attached to the middle or below the corolla tube and anthers - to be monophyletic. In this sense, we provided a phylogenetic hypothesis for *Chrysophyllum*, with an emphasis on the *Villocuspis* section. Nuclear (ETS and ITS) and plastid (*trnH-psbA* and *trnS-trnG*) molecular sequences were used for this purpose. Our results support the genus *Chrysophyllum s.s.* being monophyletic including only the *Chrysophyllum* and *Villocuspis*'s sections. Alternative phylotaxis, seed with broad adaxial or basi-ventral scar, and absence of sclereids are potential synapomorphies for the genus *Chrysophyllum*. The *Villocuspis*'s section can only be considered monophyletic with the inclusion of *C. rufum*. In addition, we have shown that the endemic species of the Atlantic forest form a clade with high support. The insertion of the stamen at the base or in the middle of the corolla tube, anther villous and the contour of the plane-convex main vein are synapomorphic potencies for the *Villocuspis* section. The members of the *Chrysophyllum* section form two groups, evidencing that this section is paraphyletic. Despite this, the species of *C. sect. Chrysophyllum* are phylogenetically related to the *C. sect. Villocuspis*. The sections *Aneuchrysophyllum*, *Priourella* and *Ragala* have been shown to be monophyletic and, therefore, deserve generic reestablishment. The *Diploon* genus, monospecific, must be retained as it consists of a sibling group of *Chrysophyllum s.s.* The small genera *Elaeoluma* and *Ecclinusa* are monophyletic and have relationship with the genus *Ragala*.

Key-words: Phylogeny, nrDNA, Atlantic forest and Chrysophylloideae.

Introdução

Sapotaceae Juss. está representada por 60 gêneros e 1343 espécies, associadas preferencialmente, às florestas úmidas de terras baixas (Pennington 1991; The Plant List 2013). Tradicionalmente tem sido circunscrita com base em caracteres morfológicos homoplásticos (Swenson e Anderberg 2005; Triono et al. 2007; Swenson et al. 2008), tais como: o tipo de venação, forma da corola e inserção do estame no tubo da corola (Faria et al. 2017), dificultando sua delimitação infrafamiliar. No entanto, análises moleculares confirmam que a maioria dos gêneros de Sapotaceae não são monofiléticos em sua circunscrição atual (Swenson e Anderberg 2005; Swenson et al. 2008), incluindo os gêneros mais representativos *Pouteria* Aubl. e *Chrysophyllum* L., bem como algumas de suas seções.

Chrysophyllum destaca-se por ser o segundo maior gênero de Sapotaceae, com 97 espécies pantropicais e por exibir um número elevado de representantes brasileiros (31 sp.). No Brasil, suas espécies são encontradas principalmente com maior riqueza nos domínios fitogeográficos da floresta Amazônica (20 sp.) e floresta Atlântica (14 sp.) (Carneiro et al. 2015). Devido à sua expressiva importância econômica, principalmente pela produção de látex, frutos e utilização da madeira (Sousa e Lorenzi 2012), e por se estabelecerem em regiões sujeitas a pressões antrópicas, quase metade (14 sp.) dos seus representantes brasileiros estão inseridos na Lista Vermelha de Espécies Ameaçadas de Extinção (Iucn 2017).

Ao longo dos anos, a circunscrição de *Chrysophyllum* passou por modificações, e suas relações infragenéricas e intergenéricas até hoje permanecem incertas (Jussieu 1789; Baehni 1938, 1965; Lam 1939; De Candolle 1844; Aubréville 1964; Pennington 1991; Swenson e Anderberg 2005). Nesse contexto, uma série de tratamentos enfocando o gênero e suas categorias infragenéricas foram propostos (De Candolle 1844; Miquel 1863; Engler 1890; Baehni 1938, 1965; Aubréville 1964) tentando resolver essa taxonomia imprecisa. Na última revisão, Pennington (1991) caracterizou o gênero por apresentar indivíduos arbustivos (Fig. 1a) ou arbóreos (Fig. 1b), tronco geralmente reticulado fissurado (Fig. 1c), filotaxia alterna dística (Fig. 1d) ou espiralada, ausência de estípulas, inflorescência axilar ramiflora ou cauliflora com flores geralmente fasciculadas (Fig. 1d, 1e, 1f, 1g), estames inclusos (Fig. 1h), sementes com endosperma as quais apresentam cicatriz larga basi-ventral (Fig. 1i) ou estreita adaxial. Esse autor reconheceu cinco seções de *Chrysophyllum* para região neotropical: *Aneuchrysophyllum* Engler, *Chrysophyllum* L., *Priurella* (Pierre) Pennington, *Ragala* (Pierre) Pennington e *Villocuspis* A.DC. de acordo com a filotaxia, posição do estame no tubo da corola e a posição da cicatriz na semente.

O nome *Villocuspis*, proposto por De Candolle (1844) é derivado do Latim para “vilosidade”, aludindo ao indumento viloso presente na antera das dez espécies circunscritas nesta seção. Esta proposta foi aceita por Miquel (1863), Eichler (1870), Radlkofer (1880) e Engler (1890). Posteriormente, Aubréville (1961) elevou *Villocuspis* ao *status* genérico, citando seis espécies para o novo gênero. Em sua revisão para as Sapotaceae Neotropicais, Pennington (1990) reduziu o gênero *Villocuspis sensu* Aubréville (1961) a uma das seis seções reconhecidas para *Chrysophyllum*. A seção foi caracterizada por apresentar espécies com filotaxia alterna dística (Fig. 1d), estames fixados no meio ou abaixo da metade do tubo da corola, anteras vilosas com tricoma branco e longo (Fig. 1h) e semente com fissura abaxial ou basi-ventral (Fig. 1i). *Chrysophyllum* sect. *Villocuspis* inclui as espécies *C. arenarium* Allemão, *C. flexuosum* Mart., *C. januariense* Eichler, *C. paranaense* T.D. Penn., *C. sparsiflorum* Klotzsch ex Miq. e *C. splendens* Spreng, todas brasileiras, sendo cinco endêmicas, destacando-se por ser a única seção em que todos os taxa ocorrem na floresta Atlântica, com quatro endemismos para este domínio fitogeográfico (Carneiro et al. 2015). Com exceção de *C. sparsiflorum*, as demais espécies pertencentes à *Villocuspis* estão inseridas na lista de espécies ameaçadas de extinção da IUCN (2017), devido, entre outros fatores, à redução e degradação de áreas da floresta Atlântica, habitat preferencial dessas espécies.

Estudos moleculares recentes confirmaram que *Chrysophyllum* é polifilético em sua circunscrição atual (Swenson e Anderberg 2005; Swenson et al. 2008; Faria et al. 2017). A análise mais detalhada, realizada por Faria et al. (2017), propõe a elevação genérica de *Chrysophyllum* sect. *Ragala* Pierre e *Prieurella* Pierre, como também o reestabelecimento dos gêneros *Achrouteria* Eyma, *Cornuella* Pierre e *Martiusella* Pierre. Além disso, os autores destacam que as circunscrições de *Chrysophyllum* sect. *Chrysophyllum* e *C.* sect. *Villocuspis* permanecem incertas e devem ser exploradas usando uma amostragem maior de *taxa*.

Desse modo, uma amostragem representativa e com enfoque na seção *Villocuspis*, resultará em dados mais consistentes sobre a filogenia podendo dar suporte para melhor conhecimento futuro do gênero e compreensão de uma variedade de fenômenos evolutivos (Hennig 1966; Brooks e McLennan 1991). Desta forma, nesse artigo fornecemos uma nova hipótese filogenética para *Chrysophyllum* L., com ênfase na sect. *Villocuspis*, com uma amostragem expandida de ambos os taxa, a fim de discutir as relações interespecíficas e intergenéricas com base em ferramentas taxonômicas. As seguintes questões serão abordadas: (1) O gênero *Chrysophyllum* sect. *Villocuspis* é monofilético? (2) Quais são as relações entre as suas espécies? (3) Que caracteres morfológicos e anatômicos são congruentes com os cladogramas da análise filogenética molecular?

Material e métodos

Amostragem de táxon

Esse trabalho englobou de todas as espécies de *Chrysophyllum* sect. *Villocuspis*, como também por duas ou mais espécies das demais seções do gênero encontradas na Neotropical, tendo como preferência por espécies endêmicas ou de ocorrência na Floresta Atlântica, totalizando 17 espécies do gênero. Para o grupo externo foram incluídas amostras de todos os gêneros de Chrysophylloideae a região Neotropical: *Chromolucuma* Ducke, *Diploon* Cronquist, *Ecclinusa* Mart., *Elaeoluma* Baill., *Micropholis* (Griseb.) Pierre, *Pradosia* Liais, *Pouteria* Aubl. e *Sarcaulus* Radlk. O gênero *Pouteria* foi representado por três espécies, por ter sido previamente indicada afinidade filogenética com *Chrysophyllum* (Triono et al. 2007; Swenson et al. 2008; Bartshi et al. 2011; Swenson et al. 2013; Terra-Araujo et al. 2015; Faria et al. 2017). Existe indício que *Micropholis* é irmão de todos os outros táxons de Chrysophylloideae neotropicais (Bartish et al. 2011; Faria et al. 2017), tornando-o o grupo externo mais apropriado para a árvore. Todos os taxa, informações de vouchers e números de acesso ao Genbank estão listados na Tabela S1.

Composição e alinhamento da matriz de dados moleculares

O material genômico foi extraído a partir de 0,2g de tecido foliar seco em sílica gel coletadas em campo ou espécimes de herbários. As extrações foram realizadas seguindo o protocolo CTAB (Doyle e Doyle 1987). Houve acréscimo de 2 µl de proteinase K por amostra e, para os materiais de herbário, foi adicionado 8 µl de β-mercaptoetanol por amostra. Foram extraídos dados de sequências moleculares para as regiões gênicas do DNA nuclear (nrDNA) - ITS e ETS por serem regiões altamente informativas em outros estudos de filogenia para a subfamília Chrysophylloideae e a família Sapotaceae (Swenson et al. 2007, 2008, 2013), como também do cloroplasto (cpDNA) - *trnH-psbA* e *trnS-trnG*.

A amplificação dos fragmentos de DNA foi realizada através da PCR (reação em cadeia da polimerase), utilizando-se *primers* específicos desenvolvidos para Sapotaceae (Swenson e Anderberg 2005; Swenson et al. 2013): ETS - 18S-ETS (Baldwin e Markos 1998) e Sap-1 (Swenson et al. 2008), ITS - 18SF e 26RN (Rydin et al. 2004) e ITS internos 20F – TCTCGCATCGATGAAGAACGT e 58R - AAACCTCGATGGTTCACGGGA (Pereira et al., dados não publicados), *trnH-psbA* (Hamilton 1999) e *trnS-trnG* (Shaw et al. 2005). Cada marcador ficou com volume final de 12,75 µL com os seguintes componentes de reação: 1,5 µL DNA total, 1 µL de cada primer, 1 µL Betaína, 1 µL de DMSO, 1 µL de Albumina do soro bovino (BSA) e 6,25 µL de Taq DNA polimerase Green Master®. As condições da PCR seguiram o protocolo de Swenson et al. (2013) para nrDNA e Swenson et al. (2008) para

cpDNA com modificação no tempo de anelamento para 1min. Os produtos de PCR foram purificados com Polietilenoglicol (PEG 20%) por precipitação dos primers e dNTPs segundo protocolo de Dunn e Blattner (1987). As reações de sequenciamento foram conduzidas com os mesmos *primers* de amplificação e realizadas pelo laboratório de Análise Genética e Molecular (CBMEG) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). As sequências obtidas foram reunidas no programa Geneious e alinhadas, através do algoritmo MAFFT (versão 7.017; Katoh et al. 2013) implementado na plataforma “<https://mafft.cbrc.jp/alignment/server/>”. A edição do alinhamento foi feita posteriormente no programa Mesquite (versão 3.31).

Inferência Bayesiana (BI)

As probabilidades posteriores Bayesianas (PP) foram calculadas usando o programa MrBayes v.3.1.2 (Ronquist e Huelsenbeck 2003). Cada marcador foi testado individualmente para o modelo de substituição de melhor ajuste utilizando o programa jModelTest 2.1.6 (Darriba et al. 2012) de acordo com o Critério de Informação Bayesiana (BIC, Schwarz 1978). As matrizes utilizadas foram particionadas, tendo como base o melhor modelo de ajuste para o marcador ITS: TrNef + G, ETS e *trnS-trnG*: HKY + G, e para o *trnH-psbA*: HKY. As buscas das árvores foram feitas com 100.000.000 de gerações, usando uma cadeia de Markov Monte Carlo (MCMC), a partir de árvores aleatórias. Utilizamos três cadeias quentes e uma fria (nchains=4), em duas corridas (nrun=2), registrando os parâmetros de árvore a cada 2500 gerações. A mistura da cadeia e a convergência foram verificadas no programa Tracer v.1.5 (Rambaut e Drummond 2007a) para confirmar que as cadeias do MCMC tenham corrido o tempo suficiente, os valores estimados de tamanho de amostra (ESS) para todos os parâmetros foram consideradas válida > 200 . A distribuição posterior das árvores foi combinada após a remoção das primeiras 2500 árvores de cada corrida, na qual foi gerada árvore máxima de credibilidade do clado (MCC) no programa TreeAnnotator v1.8.4 (Rambaut e Drummond 2007b). A árvore MCC foram preparadas no programa FigTree v.1.3.1. (Rambaut 2009). Para testar a consistência dos cladogramas gerados foi realizada uma análise de probabilidade posterior (PP), na qual foram considerados: PP de $\geq 0,95$ foram considerados fortes e os $< 0,95$ fracos.

Máxima Verossimilhança (MV)

A inferência de máxima verossimilhança (ML) foi gerada no programa RAxML-HPC v.8 (Stamatakis 2014), via cluster do Cipres Science Gateway “www.phylo.org” (Miller et al. 2010). A análise consistiu em uma busca heurística tomando por base uma árvore pelo

método *Neighbour joining*, utilizamos o modelo padrão (GTRCAT) para todos os marcadores, com 1000 réplicas sob o algoritmo de *bootstrapping* rápido. Os valores de *Bootstrapping Support* (BS) (apenas aqueles com $\geq 50\%$ são indicados) foram avaliados da seguinte forma: valores $\geq 85\%$ como fortemente suportado, 75% a 84% como moderado e de 50% a 74% são considerados fracos.

Mapeamento de caracteres morfoanatômicos

Para melhor compreensão da evolução dos caracteres da seção *Villocuspis*, construiu-se uma matriz de caracteres morfológicos e anatômicos. Os caracteres da morfologia externa foram selecionados a partir de observação de espécimes obtidos *in vivo*, análises de materiais depositados em herbários e a consulta de descrições em obras clássicas (De Candolle 1844; Miquel 1863; Engler 1890; Baehni 1938, 1965; Aubréville 1964; Pennington 1990, 1991). Para os caracteres da morfologia interna, todas as amostras selecionadas foram submetidas ao processo de reversão de herborização (Smith e Smith 1942), onde foram realizados cortes anatômicos transversais na região mediana do pecíolo e da lâmina foliar, todos à mão livre. Os cortes foram clarificados em hipoclorito de sódio a 50% e corados com fucsina básica e azul de Astra e posteriormente, examinados com Microscópio Óptico, seguindo as terminologias de Theobald et al. (1979) e Howard (1979). Foram selecionados 22 caracteres para a reconstrução (Tabela S2), escolhidos por aparentemente melhor definirem os gêneros.

A matriz morfoanatômica foi construída no programa Mesquite v2.75 (Maddison e Maddison 2011), da qual realizou-se uma análise de reconstrução de estados de caráter ancestrais pelo critério de parcimônia (Maddison e Maddison 2005). A árvore de consenso de maioria gerada por inferência bayesiana através da matriz molecular concatenada foi selecionada para a reconstrução de estados de caráter por apresentar maior resolução interna. O modo MPR (“Most Parsimonious Reconstructions”) para visualizar todas as hipóteses de mudanças de estados de caráter nos casos em que as reconstruções se mostraram ambíguas para nós de interesse. Os caracteres foram classificados como não ordenados e não ponderados.

Resultados

O número de caracteres moleculares alinhados é 2633, incluindo 412 pares de bases de ETS, 832 de ITS, 610 de *trnH-psbA* e 779 de *trnS-trnG*. Não foram encontrados clados incongruentes fortemente suportados entre partições individuais na análise de MV ou BI, portanto, todas as partições foram combinadas em uma única matriz. As discussões adicionais foram baseadas no cladograma de consenso resultante da análise de BI e MV do conjunto de

dados moleculares combinados. O cladograma de consenso baseado na análise de BI está representado na figura 2. Os PPs estão indicados acima das ramificações e os valores de BS abaixo dos ramos. Árvores geradas por análise molecular individual estão disponíveis no material suplementar (Fig. S1, S2, S3 e S4).

A resolução geral da árvore permitiu a detecção de 14 clados fortemente sustentados, além de algumas espécies de afinidade incerta (Fig. 2). De acordo com nossas análises *Chrysophyllum* (clado B, C, D e E) é parafilético. As seções *Chrysophyllum* e *Villocuspis* (clado E) se encontram em um clado com suporte máximo (PP = 1.00; BS = 100%). Os nossos resultados não suportam o monofilatismo da seção *Villocuspis* (clado H, PP = 1.00; BS = 100%), sem a inclusão de *C. rufum* Mart. (sect. *Chrysophyllum*) no clado. Além disso, a sect. *Villocuspis* é composta de dois clados bem apoiados (Clado I, PP = 1.00; BS = 94% e clado J, PP = 1.00; BS = 99%), porém a espécie *C. rufum* não apresenta relação suportada com nenhum dos clados. Os membros da sect. *Chrysophyllum* aparecem na árvore em clados separados (clado F e G, PP = 1.00; BS = 100%), mas apenas o clado ‘G’ apresenta uma estreita relação com a sect. *Villocuspis* (clado H), com alto suporte (PP = 1.00; BS = 100%). Já as seções *Aneuchrysophyllum* (clado D) e *Priourella* (clado C) são monofiléticas (PP = 1.00; BS = 100%) e possivelmente grupos irmãos (PP = 0.91). *Chrysophyllum* sect. *Ragala* (clado B) também forma um clado monofilético (PP = 1.00; BS = 100%) e compartilha uma possível afinidade com *Elaeoluma nuda* (Baehni) Aubrév. e *Ecclinusa lanceolata* (Mart. & Eichler) Pierre, relação esta com moderado suporte (clado A; PP = 0.99; BS = 81%).

Os pequenos gêneros *Elaeoluma* e *Ecclinusa* provavelmente são monofiléticos. As relações filogenéticas dos gêneros *Chromolucuma* e *Sarcaulus* permaneceram não resolvidas; apesar disso, *Chromolucuma* apresenta uma relação de suporte moderado (BS = 80%) com *Pouteria torta* (Mart.) Radlk. e *Pradosia lactescens* (Vell.) Radlk.

A análise anatômica das espécies selecionadas revelou a existência de características codificadas comuns às espécies da seção *Villocuspis*. O pecíolo, em secção transversal, possui contorno variando de plano-convexo a côncavo-convexo (Fig. 3a e b), sem feixes acessórios, mas com presença de laticíferos e cristais (Fig. 3c). O contorno da nervura principal é plano-convexo (Fig. 3d), exceto em *C. paranaense* na qual é biconvexo (Fig. 3e). O mesofilo é dorsiventral (Fig. 3f), com tricomas malpighiáceos na face abaxial (Fig. 3g). Esclereídes e bainha do feixe não foram observados no mesofilo.

A otimização de 22 caracteres morfoanatômicos na reconstrução de estados de caráter ancestrais pelo critério de parcimônia evidenciou seis caracteres como sinapormorfias potenciais (Fig. 4). Em primeiro, a filotaxia alterna-distica, apesar de apresentar o ancestral ambíguo, é uma possível sinapomorfia para o gênero *Chrysophyllum* s.s. (Fig. 4a). Apesar de

estarem presentes em alguns grupos externos, a cicatriz adaxial ou basi-ventral ampla e a ausência de esclereídes foram reconstruídas de forma inequívoca como sinapomorfias para o ancestral de *Chrysophyllum s.s.* (Fig. 4b e 4c). Embora presente nos grupos externos, dentro do gênero *Chrysophyllum s.s.* a inserção do estame no meio ou na base do tubo da corola é uma sinapomorfia para seção *Villocuspis*, porém de reconstrução ambíguo (Fig. 4d). A antera vilosa é uma provável sinapomorfia exclusiva para seção *Villocuspis* apesar de não ocorrer em *C. rufum* (Fig. 4e). E por fim, o contorno da nervura principal plano-convexo é uma sinapomorfia inequívoca para seção *Villocuspis* (Fig. 4f).

Discussão

Nossos resultados corroboram com outros trabalhos que evidenciaram que a classificação de *Chrysophyllum sensu* Pennington (1991) está em desacordo com os resultados obtidos nos estudos filogenéticos (Swenson e Anderberg 2005; Swenson et al. 2008; Swenson et al. 2013; Faria et al. 2017).

Gênero *Chrysophyllum* L.

Os terminais de *Chrysophyllum sensu* Pennington (1991) estão distribuídos em quatro grupos (clado B, C, D e E). Para refletir os resultados deste e de estudos filogenéticos anteriores, o gênero *Chrysophyllum s.s.* (clado E – incluindo a espécie tipo do gênero, *C. cainito*) seria composto apenas pelas seções *Chrysophyllum* (clado F e G) e *Villocuspis* (clado H). A presente proposta está de acordo com os resultados obtidos por Faria et al. (2017), na qual essas seções são agrupadas (clado H, Faria et al. 2017) e apresentam uma relação com as espécies de *Pouteria* sect. *Antholucuma* e *P.* sect. *Rivicoa*, com suporte “moderado” apenas na análise de probabilidade posterior (PP = 0.84). Apesar disso, Faria et al. (2017) não fazem inferências sobre o clado pois acreditam que o mesmo deve ser explorado usando uma maior amostragem de taxa.

Desse modo, *Chrysophyllum s.s.* é caracterizado por apresentar folhas alternas dísticas e semente não comprimida lateralmente com cicatriz adaxial ou basi-ventral relativamente ampla, que constituem características compartilhadas pelas seções *Chrysophyllum* e *Villocuspis sensu* Pennington (1990, 1991). A análise de reconstrução de estados de caráter ancestrais demonstrou que a filotaxia alterna dística (Fig. 4a) e a cicatriz da semente adaxial ou basi-ventral ampla (Fig. 4b), ambos os caracteres utilizados por Pennington (1990, 1991), são prováveis sinapomorfias para *Chrysophyllum s.s.*, e que a perda de esclereídes também representa uma sinapomorfia para o gênero (Fig. 4c). Adicionalmente, a posição dos estames

no tubo da corola e a presença ou ausência de tricomas na antera são atributos que contribuem para a distinção dessas seções (Pennington, 1990).

Chrysophyllum* sect. *Villocuspis

Dentro de *Chrysophyllum*, a sect. *Villocuspis* (clado H) deve ser mantida, mas com a inclusão de *C. rufum*. A seção é caracterizada por apresentar estames posicionados no meio ou abaixo da metade do tubo da corola e anteras vilosas (Pennington, 1990) e a nossa análise de reconstrução sugere que ambos os estados de caráter utilizados por Pennington (1990) para caracterizar a seção *Villocuspis* são possíveis sinapomorfias da mesma (Fig. 4d e 4e). Adicionalmente, este trabalho demonstra que o contorno plano-convexo da nervura principal também é uma sinapomorfia para a seção (Fig 3d e 4f). A seção apresentou duas linhagens principais, as quais são fortemente sustentadas.

O clado “I” é composto pelas espécies de *C. arenarium* Allemão (Caatinga, Cerrado e floresta Atlântica) e *C. sparsiflorum* Klotzsch ex Miq. (Floresta Atlântica e Amazônica) que morfologicamente são bem distintas porque apresentam hábito, comprimento das folhas e sistema sexual diferentes.

O clado “J” apresentou correlação com caracteres morfológicos, já que ambas as espécies apresentam folhas com mais de 5 cm de comprimento, indumento persistente na face adaxial, corola de 3-7 mm de comprimento, geralmente cinco lobos, estames posicionados a um terço da base do tubo da corola, semente com testa mais fina e cicatriz basi-ventral. Além disso, a distribuição geográfica, considerando que se trata de espécies endêmicas da floresta Atlântica brasileira. As espécies do clado “J” são muito próximas morfologicamente e geralmente podem ser confundidas quando estéries, principalmente com *C. flexuosum* Mart., *C. paranaense* T.D. Penn. e *C. splendens* Spreng., mas podem ser diferenciadas, principalmente, pelo tamanho e forma do limbo, tipo e cor do indumento, tipo e calibre da venação e do tipo da venação terciária (Pennington, 1990).

Apesar de *C. rufum* estar inserida na seção, a mesma não apresentou relação com nenhum dos cladogramas “I” e “J”. Embora *C. rufum* (sect. *Chrysophyllum sensu* Pennington, 1991) não compartilhe características morfológicas exclusivas com a seção, trata-se de uma espécie endêmica e sua distribuição geográfica é equivalente ao encontrado para *C. arenarium*.

Chrysophyllum* sect. *Chrysophyllum

Chrysophyllum sect. *Chrysophyllum* ficou dividida em dois grupos com alto suporte (Clado, F e G, PP = 1; PS = 100%), evidenciando que provavelmente a seção não é monofilética. As espécies do Clado F são próximas vegetativamente e podem ser confundidas

por apresentarem forma da folha e venação semelhantes, além disso, apresentam o pólen anômalo (Pennington, 1990). O clado G inclui *C. cainito* L. espécie *typo* do gênero, além de *C. oliviforme* L., ambas não ocorrem naturalmente no Brasil. Estas espécies são morfologicamente relacionadas, sendo difícil de distinguir amostras estéreis, pois apresentam folhas geralmente elípticas, coriáceas, com face adaxial glabra ou glabrescente na nervura principal, face abaxial seríceo-tomentoso, tricoma dourado-ferrugíneo e venação broquidódroma. Apesar disso, se diferenciam, principalmente, pela proporção do tubo com o comprimento do lobo da corola (Pennington, 1990). Além disso, ambas as espécies foram estabelecidas na sect. *Gyamnanthera* (Miquel, 1863) juntamente com *C. rufum* e na sect. *Cainitillo* (Pierre, 1904) juntamente com *C. argenteum* Jacquin, *C. pauciflorum* Lam, reforçando a existência de afinidades entre elas.

Chrysophyllum* sect. *Ragala

A sect. *Ragala* (clado B) correspondente ao reestabelecimento do gênero *Ragala sensu* Aubréville (1964, 1974) ou *C. sect. Ragala sensu* Pennington (1991, Faria et al. 2017), apresenta uma relação com *Ecclinusa* e *Elaeoluma* (Clado A; PP = 0.99; BS = 81%). O gênero *Ragala* foi descrito por Pierre (1891) baseando-se em *Ragala sanguinolenta* Pierre (= *Chrysophyllum sanguinolentum* (Pierre) Baehni), também conhecida como “balata vermelha” por apresentar secreções abundantes com aspecto sanguinolento. Além disso, o autor relatou que existe uma afinidade entre *Ragala* e *Ecclinusa*. Entretanto, características como: cálice acrescente, tubo da corola muito curto, inserção dos estames na base do tubo, disco cúpular, pericarpo seco e escleroso, justificaria o estabelecimento genérico de *Ragala*. Posteriormente, *Ragala* foi sinonimizada a *Chrysophyllum* por Baehni (1965) e ao *status* de seção de *Chrysophyllum* por Pennington (1990). Assim, o reestabelecimento do *status* genérico de *Ragala* (Faria et al. 2017) é, portanto, legitimado neste estudo, uma vez que o clado B não é um parente próximo de *Chrysophyllum s.s.* (Clado E), como também por englobar sua espécie tipo.

Chrysophyllum* sect. *Priourella

Pierre (1891), baseando-se em *C. cuneifolium* Rudge, estabeleceu o gênero *Priourella* diferenciando-o de *Chrysophyllum* pela presença de fascículos caulifloros. A circunscrição genérica de *Priourella* foi ampliada por Aubréville (1964, 1972) e caracterizada pela disposição da venação secundária, venação terciária paralela, inflorescência cauliflora, flores pentâmeras, corola com tubo curto, ausência de estaminódios, fruto com 4-5 sementes e sementes com cicatriz linear ou oblonga. Posteriormente, Pennington (1991) reduziu o gênero

a uma seção de *Chrysophyllum*. Nossos dados indicam que *C. sect. Priourella* (clado C) é um grupo distante de *Chrysophyllum s.s.* (Clado E), o que justifica o reestabelecimento genérico de *Priourella sensu* Aubréville (1967), como proposto por Faria et al. (2017). Além disso, evidenciamos que *Priourella* (clado C) possui uma afinidade com *C. sect. Aneuchrysophyllum* (clado D) com suporte “moderado” (PP = 0.91), ambos compartilham características como folhas espiraladas, organizadas geralmente no ápice dos ramos e semente lateralmente comprimida, com cicatriz adaxial estreita.

Chrysophyllum sect. Aneuchrysophyllum

Com base em uma politomia de baixo suporte (PP= 80; PJ = 56%) para a *C. sect. Aneuchrysophyllum*, Faria et al. (2017) sugeriram o restabelecimento do *status* genérico de *Achrouteria*, *Cornuella* e *Martiusella*. Entretanto, nossos dados não suportam o reestabelecimento de *Martiusella*. Haja vista que o clado D composto pelas espécies *Chrysophyllum imperiale* (Linden ex K. Koch & Fintelm.) Benth. & Hook. f. e *C. viride* Mart. & Eichl. com suporte máximo (PP = 1,00; BS= 100%), não correspondem ao gênero *Martiusella* proposto por Pierre (1891), que incluía apenas *Martiusella gonocarpa* (Mart. & Eichler ex Miq.) Pierre e *M. imperialis* (Linden ex K. Koch & Fintelm.) Pierre, anteriormente pertencentes à *sect. Aneuchrysophyllum sensu* Engler (1890). Além disso, Bailon (1891), no mesmo ano, reduziu *Martiusella* à sinonímia de *Chloroluma*. Esta proposta foi aceita por Aubréville (1961), evidenciando que *Chloroluma* (*Chloroluma gonocarpa* (Mart. & Eichl. ex Miq.) Baill., *Chloroluma imperialis* (Linden ex K. Koch & Fintelm.) Aubrév., *Chloroluma saldanhaei* Glaz. ex Aubrév. e *Chloroluma viridis* (Mart. & Eichler) Aubrév.) é um grupo homogêneo que, embora apresente semelhanças na organização floral com *Chrysophyllum*, a singularidade das características foliares, que incluem folhas de limbo translúcido, verde-claro, membranáceas ou cartáceas e venação amarela proeminente em ambas as faces, o torna morfológicamente distinto de *Chrysophyllum*. Apesar disso, Pennington (1991) reduziu *Chloroluma* a *C. sect. Aneuchrysophyllum*. Sob essa perspectiva, nossa filogenia demonstrou que a seção *Aneuchrysophyllum* (clado D) está posicionada distante de *Chrysophyllum s.s.* e, possivelmente, deverá ser reestabelecimento para o gênero *Chroroluma*.

Os gêneros *Ecclinusa* e *Elaeoluma*

Ecclinusa e *Elaeoluma* apresentaram uma relação de moderado suporte com o gênero *Ragala*, assim como foi observado nos dados encontrados por Terra-Araujo et al. (2015) e Faria et al. (2017). Em estágio vegetativo esses gêneros são semelhantes por apresentarem filotaxia alterna-espiralada, geralmente com folhas dispostas no ápice dos ramos, folhas largo

elípticas, obovadas ou oblanceoladas e venação geralmente eucamptódroma. Além disso, compartilham outras características como inflorescências axilares, flores geralmente unissexuadas, corola geralmente com 5 lobos e tubo geralmente mais curto que os lobos, estame posicionados no ápice do tubo ou raramente no meio do tubo, filetes bem desenvolvidos, anteras glabras e estaminódios geralmente ausentes. Já o gênero *Chromolucuma* que se diferencia dos outros gêneros por apresentar látex amarelo, em vez de branco e grandes estípulas persistentes (Pennington 1991), possui uma moderada afinidade com as espécies *Pouteria torta* e *Pradosia lactescens* e essa relação do gênero *Chromolucuma* com *Pouteria* e *Pradosia* também é observada por Swenson et al. (2008), Terra-Araujo et al. (2015) e Faria et al. (2017).

A nossa avaliação filogenética de *Chrysophyllum* para a região Neotropical fornece novas inferências e sugerimos hipóteses a serem testadas futuramente. Os conceitos genéricos de *Chrysophyllum sensu* Pennington (1991) são insustentáveis, devido a isso, seus grupos taxonômicos devem ser redelimitados. Desse modo, acreditamos que o gênero *Chrysophyllum* está representado apenas pelas seções *Chrysophyllum* e *Villocuspis*, e tem como possíveis sinapomorfias a filotaxia alterna-dística, sementes com cicatriz adaxial ou basi-ventral ampla e ausência de esclereídes. *Chrysophyllum* sect. *Villocuspis* é monofilética com a inclusão de *C. rufum*, apresentando como possíveis sinapomorfias a inserção do estame na base ou no meio do tubo da corola, anteras vilosas e o contorno da nervura principal plano-convexo e já a secção *Chrysophyllum* não é um grupo natural e deve ser mais bem explorado em outros estudos. Os gêneros *Ecclinusa* e *Elaeoluma* apresentam relações filogenéticas com *Ragala*.

Agradecimentos

Agradecemos ao Laboratório de Florística e Ecossistemas Costeiros (UFRPE), ao Laboratório de Taxonomia Vegetal da UNICAMP por fornecer toda infraestrutura necessária às análises moleculares e ao Laboratório de Biologia Vegetal (UESPI) pelo suporte técnico em análises anatômicas. Este estudo foi desenvolvido através da concessão de uma bolsa de pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aubréville A (1961) Notes sur les Sapotacées de l'Afrique équatoriale. Notul. Syst. (Paris) 16:223

Aubréville A (1964) Sapotacées. Adansonia, Mémoire 1: 1-157

Aubréville A (1967) Flore de la Nouvelle Calédonie et Dépendances. 1. Sapotaceae

Aubréville A (1974) Flore de Madagascar et des Comores. Sapotacées. Muséum National D'Histoire Naturelle, 127p

Baehni C (1938) Mémoires sur les sapotacées i: système de classification. 1 ed. Candollea, pp 394-508

Baehni C (1965) Mémoires sur les sapotacées iii: Inventaire des genres. 3 ed. Boissiera, 1965. 262 p

Baldwin BG, Markos S (1998) Phylogenetic Utility of the External Transcribed Spacer (ETS) of 18S-26S rDNA; Congruence of ETS and ITS Trees of *Calycadenia* (Compositae). Molecular Phylogenetics and Evolution 10(3): 449-463. doi: 10.1006/mpev.1998.0545

Bartish IV, Antonelli A, Richardson JE, Swenson U (2010). Vicariance or long-distance dispersal: historical biogeography of the pantropical subfamily Chrysophylloideae (Sapotaceae). Journal of Biogeography, 38(1): 177–190. doi:10.1111/j.1365-2699.2010.02389.x

Brooks DR, McLennan DA (1991) Phylogeny, ecology, and behavior: a research program in comparative biology. Chicago: University of Chicago Press, 434 p

Carneiro CE, Alves-Araujo A, Almeida Jr. EB, Terra-Araujo MH (2015) Sapotaceae/*Chrysophyllum* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB217>, Acessado 05 Abril 2017

Cronquist A (1946) Studies in the Sapotaceae. VI. Miscellaneous notes. Bull. Torrey Bot. Club 73(5):466-467

Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. Nature Methods, 9(8) 772–772. doi: 10.1038/nmeth.2109

De Candolle A (1844) Sapotaceae. In: De Candolle, A. Prodrômus systematis naturalis regni vegetabilis. 8 ed. Parisii: Sumptibus Sociorum Treuttel et Würtz, pp 154-208

Doyle JJ, Doyle JL (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin 19: 11-15

Dunn IS, Blattner FR (1987) Sharons 36 to 40: multi-enzyme, high capacity, recombination deficient replacement vectors with polylinkers and polystuffers. Nucleic Acids Research 15(6): 2677-2698

Eichler AW (1870) *Chrysophyllum* in: Videnskabelige Meddelelser fra den naturhistoriske Forening i Kjöbenhavn. Kjöbenhavn :Selskabets Bestyrelse, pp 206-209

Engler A (1890) Beiträge zur Kenntnis der Sapotaceae. In: ENGLER, A. Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie. Library of the university of Illinois 12: 496-525

Faria AD, Pirani JR, Ribeiro JELDS, Nylinder S, Terra-Araujo MH, Vieira PP, Swenson U (2017) Towards a natural classification of Sapotaceae subfamily Chrysophylloideae in the Neotropics. Botanical Journal of the Linnean Society, 185(1), 27–55. doi: 10.1093/botlinnean/box042

Hamilton MB (1999) Four primer pairs for the amplification of chloroplast intergenic regions with intraspecific variation. Mol. Ecol. 8: 521–523

Hennig W (1966) Phylogenetic systematics. London: University of Illinois Press, 263 p

Howard RA (1979) The petiole. In: Metcalfe CR, Chalk L (eds) Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of the leaf and stem, Oxford Clarendon, Oxford, v. 1, pp 88–96

IUCN (2018) Lista vermelha das espécies de *Chrysophyllum* para o Brasil. Disponível em: <http://www.iucnredlist.org/search>, Acessado 20 Abril 2018

Jussieu AL (1789) Sapotae. In: Jussieu AL Genera plantarum: secundum ordines naturales disposita, juxta methodum in Horto regio parisiensi exarata, anno M.DCC.LXXIV. Parisiis: apud viduam Herissant et Theophilum Barrois, pp 151-158

Katoh K, Standley DM (2013) MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30(4) 772–780. doi: 10.1093/molbev/mst010

Lam HJ (1939) On the system of the Sapotaceae, with some remarks on taxonomical methods. *Recueil Travaux botaniques néerlandais* 36: 509–525

Maddison WP, Maddison DR (2005) Ancestral state reconstruction packages for Mesquite, version 1.0. <http://mesquiteproject.org>

Maddison WP, Maddison DR (2011). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.75 <http://mesquiteproject.org>

Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T (2010) "Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees" in Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 14 Nov. 2010, New Orleans, LA pp 1 - 8

Miquel FAW (1863) Sapotaceae. In: Martius CFP. *Flora Brasiliensis: enumeratio plantarum in Brasilia hactenus detectarum : quas suis aliorumque botanicorum studiis descriptas et methodo naturali digestas partim icone illustratas*. Lipsiae apud Frid. Fleischer in Comm. 7(32): 37 – 118

Pennington TD (1990) *Flora Neotropica: Monograph 52, Sapotaceae*. New York: The New York Botanical Garden, 770 p

Pennington TD (1991) *The genera of Sapotaceae*. New York: Royal Botanic Gardens, Kew, 295 p

Pierre L (1891) Sapotacées. In: Notes Botaniques, Paul Klincksieck, Paris

Radlkofer L (1888) Sapotaceae. In: DURAND, TH. Index Generum Phanerogamorum, Bruxellis :Sumptibus auctoris, pp 252- 257

Rambaut A (2009) FigTree, version 1.3.1. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>

Rambaut A, Drummond AJ (2007a) Tracer, version 1.5. <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>

Rambaut A, Drummond AJ (2007b) TreeAnnotator, version 1.5.4. <http://beast.bio.ed.ac.uk/>

Ronquist F, Huelsenbeck JP (2003) MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19(12): 1572–1574. doi: 10.1093/bioinformatics/btg180

Rydin C, Pedersen KR, Friis EM (2004) On the evolutionary history of *Ephedra*: Cretaceous fossils and extant molecules. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(47): 16571–16576. doi: 10.1073/pnas

Schwarz G (1978) Estimating the dimension of a model, *Ann. Statist.* 6: 461-464

Shaw J, Lickey EB, Beck JT, Farmer SB, Liu W, Miller J, Siripun KC, Winder CT, Schilling EE, Small RL (2005) The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. *Am. J. Bot.* 92: 142-166

Smith FH, Smith EC (1942) Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. *Am. J. Bot.* 29(6):464–471

Souza VC, Lorenzi H (2012) Botânica sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG iii. 3 ed. São Paulo: Instituto Plantarum, pp 550-552

Stamatakis A (2006) RAxML-VI-HPC: Maximum Likelihood-based Phylogenetic Analyses with Thousands of Taxa and Mixed Models. *Bioinformatics* 22: 2688-2690

Swenson U, Anderberg AA (2005) Phylogeny, character evolution, and classification of Sapotaceae (Ericales). *Cladistics* 21(2): 101–130. doi: 10.1111/j.1096-0031.2005.00056.x

Swenson U, Bartish IV, Munzinger J (2007) Phylogeny, diagnostic characters and generic limitation of Australasian Chrysophylloideae (Sapotaceae, Ericales): evidence from ITS sequence data and morphology. *Cladistics* 23(3): 201–228. doi: 10.1111/j.1096-0031.2006.00141.x

Swenson U, Richardson JE, Bartish IV (2008) Multi-gene phylogeny of the pantropical subfamily Chrysophylloideae (Sapotaceae): evidence of generic polyphyly and extensive morphological homoplasy. *Cladistics* 24(6): 1006–1031. doi: 10.1111/j.1096-0031.2008.00235.x

Swenson U, Nylinder S, Munzinger J (2013) Towards a natural classification of Sapotaceae subfamily Chrysophylloideae in Oceania and Southeast Asia based on nuclear sequence data. *Taxon* 62(4): 746–770. doi: 10.12705/624.11

Terra-Araujo MH, de Faria AD, Vicentini A, Nylinder S, Swenson U (2015) Species tree phylogeny and biogeography of the Neotropical genus *Pradosia* (Sapotaceae, Chrysophylloideae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 87: 1–13. doi: 10.1016/j.ympev.2015.03.007

Theobald WL, Krahulik JL, Rollins RC (1979) Trichome description and classification. In: Metcalfe CR, Chalk L (eds) *Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of the leaf, stem*, 2nd ed. Oxford Clarendon, Oxford, 1:40–53

The Plant List 2013. Version 1.1. Published on the Internet; Disponível em: <http://www.theplantlist.org/>, Acessado 02 Outubro 2018

Triono T, Brown AHD, West JG, Crisp MD (2007) A phylogeny of *Pouteria* (Sapotaceae) from Malesia and Australasia. *Australian Systematic Botany* 20(2): 107. doi: 10.1071/sb06011

Fig. 1 Imagens de *Chrysophyllum* (Sapotaceae). **a** *C. arenarium*, arbusto da Chapada do Araripe; **b** *C. paranaense*, indivíduo jovem na floresta Atlântica; **c** casca de *C. splendens*; **d** filotaxia e botões de *C. arenarium*; **e** botões, flores e frutos em fascículos nos ramos de *C. cainito*; **f** botões em fascículos de *C. rufum*; **g** flores em fascículos de *C. splendens*; **h** inserção do filete na base do tubo da corola e antera vilosa de *C. januariense* (CVRD 1300); **i** detalhe da cicatriz da semente de *C. splendens* (CVRD 12361). Fotografia por R.G.V.N. Lima.

Fig. 2 Árvore de consenso da maioria baseada na análise bayesiana do conjunto de dados nucleares combinados (ITS e ETS,) e plastídiais *trnH-psbA* e *trnS-trnG*. Probabilidades posteriores (PPs) estão indicadas acima, e *bootstrap* (BS) abaixo em cada ramo. Valores de sustentação baixos (PP < 0,95; BS < 75%) não estão representados na árvore. As seções de *Chrysophyllum* são codificadas por cores de acordo com a legenda.

Fig. 3 Anatomia das espécies de *Chrysophyllum* sect. *Villocuspis*: **a** pecíolo de *Chrysophyllum januariense* Eichler; **b** pecíolo de *C. sparsiflorum* Klotzsch ex Miq.; **c** cristais no pecíolo de *C. arenarium* Allemão; **d** nervura principal de *C. flexuosum* Mart.; **e** nervura principal de *C. paranaense* T.D. Penn.; **f** mesofilo de *C. rufum* Mart.; **g** tricoma malpighiáceo na face abaxial de *C. splendens* Spreng. Abreviações: C: cristais prismáticos; E: Esclereídes; La: laticíferos; LP: parênquima lacunoso; P: floema; PP: parênquima paliçádico; Tr: tricomas malpighiáceos; X: xilema * Barra de escala: 650 µm.

Fig. 4 Reconstrução do estado dos caracteres ancestrais diagnósticos para *Chrysophyllum* e para *C. sect. Villocuspis*. A seta preta aponta para o gênero *Chrysophyllum* s.s. e a seta vermelha para a seção *Villocuspis*.

Material suplementar

Fig. S1 Árvore filogenética baseada na análise bayesiana de sequências do marcador ITS. Probabilidades posteriores (PPs) estão indicadas acima, e *bootstrap* (BS) abaixo em cada ramo. Valores de sustentação baixos (PP < 0,95; BS < 75%) não estão representados na árvore.

Fig. S2 Árvore filogenética baseada na análise bayesiana de sequências do marcador ETS. Probabilidades posteriores (PPs) estão indicadas acima, e *bootstrap* support (BS) abaixo em cada ramo. Valores de sustentação baixos (PP < 0,95; BS < 75%) não estão representados na árvore.

Fig. S3 Árvore filogenética baseada na análise bayesiana de sequências do marcador *trnH-psbA*. Probabilidades posteriores (PPs) estão indicadas acima, e *bootstrap* support (BS) abaixo em cada ramo. Valores de sustentação baixos (PP < 0,95; BS < 75%) não estão representados na árvore.

Fig. S4 Árvore filogenética baseada na análise bayesiana de sequências do marcador *trnS-trnG*. Probabilidades posteriores (PPs) estão indicadas acima, e *bootstrap* support (BS) abaixo em cada ramo. Valores de sustentação baixos (PP < 0,95; BS < 75%) não estão representados na árvore.

Tabela S1 Taxa, informações sobre coletas, vouchers e acessos do GenBank utilizados neste estudo filogenético para *Chrysophyllum* sect. *Villocuspis* (Sapotaceae, Chrysophylloideae). Abreviaturas: CA – Caatinga, CE – Cerrado e MA – Mata atlântica.

Tabela S2. Lista de caracteres morfoanatômicos utilizados para a reconstrução do ancestral de *Chrysophyllum* sect. *Villocuspis* (Sapotaceae). Números indicam estados para caracteres de 1 a 22. Esses caracteres e estados são os seguintes: **(1)** Filotaxia: Alterna-dística = 0; Alterna-espiralada = 1; Alterna-dística e espiralada = 2; Oposta ou verticilada=3. **(2)** Margem: Inteira = 0; Revoluta = 1; Serreada = 2. **(3)** Venação: Broquidódroma = 0, Eucamptódromo-broquidódroma = 1; Eucamptódroma =2. **(4)** Estípulas: Ausente = 0; Presente = 1. **(5)** Sexo da Flor: Bissexuada = 0; Unissexuada = 1. **(6)** Forma da corola: Corola rotada ou amplamente cupuliforme = 0; Corola tubular, campanulada ou globosa = 1. **(7)** Número de lobos da corola: $\leq 5 = 0$; Geralmente 5 = 1; $\geq 5 = 2$. **(8)** Estames: Exsertos = 0; Inclusos = 1; **(9)** Inserção do estame no tubo da corola: Ápice do tubo da corola = 0; Meio ou na base no tubo da corola = 1. **(10)** Antera: Glabra = 0; Vilosa = 1. **(11)** Estaminódios: Ausente = 0; Presente = 1. **(12)** N° de lóculos no ovário: $\leq 5 = 0$; Geralmente 5 = 1; $\geq 5 = 2$. **(13)** Cicatriz na semente: Cicatriz adaxial ou basi-ventral relativamente ampla = 0; Cicatriz adaxial estreita = 1. **(14)** Endosperma: Ausente = 0; Presente = 1. **(15)** Conformação do pecíolo: Plano-convexo = 0; Côncavo-convexo = 1; Biconvexo = 2; Circular = 3. **(16)** Feixe vascular do pecíolo: Plano-convexo = 0; Côncavo-convexo = 1; Arco-aberto com extremidade convoluta = 2. **(17)** Feixe acessório no pecíolo: Ausência = 0; Presença = 1. **(18)** Conformação da nervura principal: Plano-convexo = 0; Côncavo-convexo = 1; Biconvexo = 2. **(19)** Feixe vascular da nervura principal: Plano-convexo = 0; Côncavo-convexo = 1; Biconvexo = 2. **(20)** Esclereídes: Ausência = 0; Presença = 1. **(21)** Cristais: Ausência = 0; Presença =1. **(22)** Bainha esclerênquimática: Ausência = 0; Presença = 1.

Tabela S2. (continuação) Lista de caracteres morfoanatômicos utilizados para a reconstrução do ancestral de *Chrysophyllum* sect. *Villocluspis* (Sapotaceae). Números indicam estados para caracteres de 1 a 22. Esses caracteres e estados são os seguintes: **(1)** Filotaxia: Alterna-dística = 0; Alterna-espiralada = 1; Alterna-dística e espiralada = 2; Oposta ou verticilada=3. **(2)** Margem: Inteira = 0; Revoluta = 1; Serreada = 2. **(3)** Venação: Broquidódroma = 0, Eucamptódromo-broquidódroma = 1; Eucamptódroma =2. **(4)** Estípulas: Ausente = 0; Presente = 1. **(5)** Sexo da Flor: Bissexuada = 0; Unissexuada = 1. **(6)** Forma da corola: Corola rotada ou amplamente cupuliforme = 0; Corola tubular, campanulada ou globosa = 1. **(7)** Número de lobos da corola: ≤ 5 = 0; Geralmente 5 = 1; ≥ 5 = 2. **(8)** Estames: Exsertos = 0; Inclusos = 1; **(9)** Inserção do estame no tubo da corola: Ápice do tubo da corola = 0; Meio ou na base no tubo da corola = 1. **(10)** Antera: Glabra = 0; Vilosa = 1. **(11)** Estaminódios: Ausente = 0; Presente = 1. **(12)** N° de lóculos no ovário: ≤ 5 = 0; Geralmente 5 = 1; ≥ 5 = 2. **(13)** Cicatriz na semente: Cicatriz adaxial ou basi-ventral relativamente ampla = 0; Cicatriz adaxial estreita = 1. **(14)** Endosperma: Ausente = 0; Presente = 1. **(15)** Conformação do pecíolo: Plano-convexo = 0; Côncavo-convexo = 1; Biconvexo = 2; Circular = 3. **(16)** Feixe vascular do pecíolo: Plano-convexo = 0; Côncavo-convexo = 1; Arco-aberto com extremidade convoluta = 2. **(17)** Feixe acessório no pecíolo: Ausência = 0; Presença = 1. **(18)** Conformação da nervura principal: Plano-convexo = 0; Côncavo-convexo = 1; Biconvexo = 2. **(19)** Feixe vascular da nervura principal: Plano-convexo = 0; Côncavo-convexo = 1; Biconvexo = 2. **(20)** Esclereídes: Ausência = 0; Presença = 1. **(21)** Cristais: Ausência = 0; Presença =1. **(22)** Bainha esclerênquimática: Ausência = 0; Presença = 1.

1 **4. CAPÍTULO II**

2
3
4 **Update do conhecimento biogeográfico e *status* de conservação de *Chrysophyllum***
5 ***januariense* Eichl. (Sapotaceae)**

6
7 Renata Gabriela Vila Nova de Lima^{1*}, Liliane Ferreira Lima¹, Edson Gomes de Moura-
8 Junior², Carmen Silvia Zickel¹

9
10 ¹ Universidade Federal Rural de Pernambuco, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

11 ² Universidade Federal do Vale do São Francisco, 56300-000, Petrolina, PE, Brasil.

12 * renatagvn@hotmail.com



21
22 **A ser submetido para Acta Botanica Brasilica – Qualis B2**

1 RESUMO

2 *Chrysophyllum* é o segundo maior gênero de Sapotaceae. No Brasil, ocorrem 31 espécies,
3 distribuídas nos diferentes domínios fitogeográficos do país. Dessas, 14 estão inseridas na
4 lista vermelha de espécies ameaçadas de extinção, com destaque para *Chrysophyllum*
5 *januariense*, espécie endêmica do domínio da Mata Atlântica, atualmente categorizada como
6 extinta segundo critérios da União Internacional para a Conservação da Natureza. Neste
7 sentido, este trabalho teve como objetivo fornecer dados sobre a distribuição geográfica
8 potencial de *Chrysophyllum januariense* e reavaliar seu *status* de conservação. A análise do
9 status de conservação foi obtida através da implementação de coordenadas no GeoCAT. A
10 análise da modelagem utilizou o algoritmo Maxent para computar os procedimentos de
11 otimização realizados no software OpenModeller 1.1. Os dados obtidos evidenciaram que *C.*
12 *januariense* deve ser recategorizada de “extinta” para “em perigo” (EN), considerando sua
13 área de ocupação (AOO) de 48.000 km². Os resultados da distribuição potencial evidenciaram
14 várias regiões litorâneas do Brasil com elevada adequabilidade ambiental para a ocorrência
15 da espécie (AUC > 0,988), destacando-se as manchas na floresta Atlântica da Bahia e de
16 Santa Catarina. Esses dados auxiliarão na determinação de áreas prioritárias para a
17 conservação de *C. januariense*, contribuindo para a redução do risco de extinção dessa
18 espécie.

19

20 **Palavras-Chave:** *Chrysophyllum*, SDM, *status* de conservação, distribuição geográfica,
21 Modelagem, floresta Atlântica, Restinga.

1 **ABSTRACT**

2 *Chrysophyllum* is the second largest genus of Sapotaceae. In Brazil there are 31 species of
3 *Chrysophyllum*, distributed throughout different phytogeographical domains of the country.
4 Of these, 14 are included in the red list of species threatened with extinction, especially
5 *Chrysophyllum januariense*, an endemic species of the Atlantic forest domain, currently
6 categorized as extinct according to IUCN criteria. In this sense, this work aimed to provide
7 data on the potential geographical distribution of *C. januariense* and to reassess its
8 conservation status. The analysis of the specie's conservation status was obtained through the
9 implementation of coordinates in GeoCAT. The modeling analysis used the Maxent algorithm
10 to compute the optimization procedures performed in OpenModeller 1.1 software. The data
11 obtained evidenced that *C. januariense* should be recategorized from "extinct" to
12 "endangered" (EN), considering its area of occupation (AOO) of 48,000 km². The results of
13 the potential distribution evidenced several coastal regions of Brazil with high environmental
14 suitability for the occurrence of the species (AUC > 0.988), especially in the Pampa (Rio
15 Grande do Sul) and in the Atlantic forest of Bahia and Santa Catarina. These data assist in
16 determining important areas for the conservation of *C. januariense* contributing in the
17 diminishment of this specie's risk of extinction.

18

19 **Key-words:** *Chrysophyllum*, SDM, conservation status, geographic distribution, Modeling,
20 Atlantic forest, Restinga

21

1 INTRODUÇÃO

2 Sapotaceae compreende 60 gêneros e 1343 espécies, com distribuição pantropical e
3 centro de diversidade na América Tropical, ocorrendo preferencialmente em florestas úmidas
4 (Pennington 1991; Armstrong 2010; The plant list 2013). No Brasil, a família está
5 representada por 12 gêneros e 235 espécies, distribuindo-se em todos os domínios
6 fitogeográficos (Carneiro *et al.* 2015).

7 *Chrysophyllum* L. é o segundo maior gênero de Sapotaceae, com 43 espécies
8 neotropicais, das quais 31 espécies estão representadas no Brasil, onde 14 são endêmicas
9 (Govaerts *et al.* 2001; Carneiro *et al.* 2015). No Brasil, praticamente inexitem pesquisas
10 com enfoque taxonômico para *Chrysophyllum*, estando a maior parte das informações restritas
11 aos registros de lista florísticas (Carvalho *et al.* 2001; Nunes *et al.* 2003; Bergamin & Mondin
12 2006; Carvalho *et al.* 2006; Pennington 2006; Corrêa & Filho 2007; Costa-Junior *et al.* 2007;
13 Brandão *et al.* 2009).

14 Dentre as espécies brasileiras de *Chrysophyllum* 14 estão inseridas na Lista Vermelha
15 de Espécies Ameaçadas de Extinção (IUCN, 2018). *Chrysophyllum januariense* é a única que
16 se encontra na categoria extinta, direcionada para as espécies em que não há dúvida de que o
17 último indivíduo esteja morto (IUCN, 2018). A mesma foi considerada extinta por Pires
18 (1998), com base em informações de que a espécie era encontrada apenas na Floresta de
19 Laranjeiras, no Rio de Janeiro. No entanto, recentemente foi redescoberta no estado do Rio de
20 Janeiro e no Espírito Santo (Sá 2002; Paula 2006; Sá & Araújo 2009; Kurtz *et al.* 2009;
21 Palazzo *et al.* 2010), como também foi reconhecida nas coleções de herbários do estado da
22 Bahia, tendo sua distribuição ampliada para esse último (Palazzo *et al.* 2012).

23 A espécie *C. januariense* é endêmica da Floresta Atlântica tendo preferência pelo
24 ecossistema de restinga (Paula 2006; Sá & Araújo 2009; Palazzo *et al.* 2010; Carneiro *et al.*
25 2015) e por áreas florestais não-inundáveis (Araújo 2009). Por estar localizada nesse

1 ecossistema, vem sofrendo perturbações nas áreas de ocorrência, principalmente devido às
2 atividades turísticas e comerciais (Sá 2002; Dantas *et al.* 2009).

3 Desse modo, pretendemos com esse estudo: i - definir as variáveis bioclimáticas e/ou
4 topográficas preditoras da distribuição geográfica potencial dessa espécie; ii – caracterizar
5 ambientalmente os locais de possível ocorrência da espécie; iii – avaliar o seu status de
6 conservação atual a partir da atualização de informações de ocorrência, recategorizando-a se
7 necessário; iv – indicar possíveis áreas de ocorrência em unidades de conservação (UC) e
8 Áreas Prioritárias para a Conservação (APCs).

9

10 **METODOLOGIA**

11 **Status de conservação**

12 Para a avaliação do *status* de conservação das espécies foram adotados os critérios
13 estabelecidos pela União Internacional de Conservação da Natureza (IUCN 2010). A extensão
14 de ocorrência (EOO) e a área de ocupação (AOO) para *Chrysophyllum januariense* foram
15 definidas pela utilização do programa GeoCAT (Bachman *et al.* 2011).

16

17 **Distribuição geográfica potencial**

18 Os registros utilizados na modelagem foram obtidos das exsicatas analisadas durante
19 as análises morfológicas. Foram considerados registros acurados e exatos aqueles cuja
20 coordenada geográfica do espécime/exsicata foi referenciada no seu ponto de coleta, sendo
21 excluídos os pontos georeferenciados para a sede de municípios (De Marco Jr. & Siqueira
22 2009; Kamino 2011). Exsicatas com registros duvidosos ou incertos mas que apresentavam
23 informações do local de coleta foram georeferenciadas com o auxílio da ferramenta geoLoc
24 da rede *SpeciesLink* (<http://slink.cria.org.br/>). Além disso, pontos próximos entre si foram
25 excluídos evitando o viés de autocorrelação espacial (Kamino 2011; Giannini *et al.* 2012).
26 Do total de verificados 19 deles atenderam aos critérios supracitados (Tabela S1) e, por isso,

1 foram utilizados na SDM. Vale ressaltar que todos os registros foram identificados ou
2 confirmados por especialistas em Sapotaceae.

3 Para a elaboração dos SDMs otimizaram-se os registros com 19 camadas ambientais
4 bioclimáticas, além da altitude (Tabela S1), todas com resolução de 30 segundos (~1 km²).
5 Cada camada apresentou dados espacializados de uma variável independente. O algoritmo
6 escolhido foi Maxent para computar os procedimentos de otimização, sendo esses realizados
7 no software Maxent 3.3.2 (Phillips *et al.* 2006). O algoritmo Maxent tem bons índices de
8 acurácia na SDM voltada à aproximação da distribuição geográfica de espécie (Phillips *et al.*
9 2006).

10 Inicialmente, 30% dos pontos foram separadas por sorteio visando avaliar o
11 desempenho dos modelos (teste externo), e 13 deles utilizados na modelagem (Tabela 1). Um
12 modelo preliminar (SDMp) foi computado com as 20 variáveis ambientais. Foram adotados
13 as curvas de resposta logística de *C. januariense* pelas variáveis ambientais e o índice
14 *jackknife* dessas camadas na SDMp para selecionar as variáveis preditoras da ocorrência da
15 espécie (Phillips *et al.* 2006; Elith *et al.* 2011). Essas curvas permitiram avaliar o tipo de
16 relação (direta ou inversa) entre a ocorrência da espécie e as variáveis ambientais, além de
17 indicar colinearidade entre as variáveis (Phillips *et al.* 2006). O índice *jackknife* possibilitou
18 avaliar os percentuais de contribuição dessas variáveis na SDMp (Tabela 2) (Phillips *et al.*
19 2006). Apenas as variáveis ambientais não colineares e com contribuição igual ou superior a
20 1% na SDMp foram consideradas preditoras da ocorrência da espécie, que por essa foram
21 utilizadas na otimização do modelo final (SDMf).

22 O SDMp e o SDMf foram resultantes de 10 procedimentos de otimização cada. Nas
23 otimizações os 13 registros da espécie foram separados em dois grupos (treino e teste). A
24 separação dos grupos de registros nas otimizações foi realizada através de sorteio do software
25 Maxent, seguindo o método de *Bootstrap*. O grupo treino contemplou os registros (70 %)
26 utilizados para a computação do modelo e o grupo teste compreendeu os registros (30 %)

1 empregados na avaliação do desempenho dos procedimentos de otimização realizados pelo
2 Maxent (teste interno) (Fielding & Bell 1997).

3 Para analisar o desempenho do SDMf foi utilizado *area under the curve (AUC) of the*
4 *receiver-operating characteristic (ROC)* resultante do teste interno, além do teste externo do
5 tipo Binomial (Phillips *et al.* 2004, 2006). Foi considerado satisfatório SDMf com AUC
6 superior a 0.8 (Guisan & Thuiller 2005) e $p < 0.05$ para o teste binomial (Phillips *et al.* 2006).
7 O teste binomial se baseou em duas proporções: 1º) o número de erros causados por omissão
8 de pontos teste não previstos por SDMf frente ao número de registros da espécie; 2º) o
9 tamanho da área indicada por SDMf como adequada para a ocorrência da espécie frente ao
10 *background* (Phillips *et al.* 2004, 2006). O AUC foi calculado pelo software Maxent 3.3.2
11 (Phillips *et al.* 2006) e o teste Binomial pelo BioEstat 5.0 (Ayres *et al.* 2007).

12 Foi definido um limite de corte (*Threshold*) baseado no valor do critério “limite
13 mínimo de presença” para distinguir os locais ambientalmente adequados daqueles não
14 adequados à ocorrência da espécie na área de estudo (Phillips *et al.* 2004, 2006). Os *pixels*
15 com adequabilidade acima do limite de corte indicaram as áreas de possível ocorrência da
16 espécie (Pearson *et al.* 2007).

17 Sobrepuemos o SDMf aos shapes de UCs e APCs, os quais foram baseados na
18 classificação do Ministério do Meio Ambiente – MMA (2017) para UCs e APCs. Para a
19 elaboração dos mapas temáticos utilizamos o Sistema de Informação Geográficas (SIG) do
20 *software* ArcGis versão 10.2.

21

22 **RESULTADOS**

23 **Atualização das ocorrências e avaliação do status de conservação de**
24 ***Chrysophyllum januariense***: De acordo com Palazzo *et al.* (2010), as amostras da espécie
25 foram coletadas na APA Monumento Natural dos Costões Rochosos, Rio das Ostras, estado
26 do Rio de Janeiro. Em outro estudo realizado por Palazzo *et al.* (2012), a espécie foi

1 reconhecida nas coleções dos herbários localizados na Bahia, ampliando assim a sua
2 distribuição geográfica, reportada até então para os estados, do Espírito Santo e o Rio de
3 Janeiro. Também foi registrada em Algodão, no município de Entre Rios, Bahia, por
4 Popovkin, A.V. em 2013, determinado por A. Alves-Araújo na coleção HUEFS - Herbário da
5 Universidade Estadual de Feira de Santana. A coleta mais recente da espécie foi realizada em
6 2015 por Sossai e Alves-Araújo (2017), na Reserva Natural Vale e na Reserva Biológica de
7 Sooretama em Linhares, ambas estado do Espírito Santo. Os recentes registros de coleta da
8 espécie indicam que a mesma não se encontra “extinta”, porém ainda apresenta um baixo
9 número de indivíduos em fragmentos de floresta Atlântica.

10 A ferramenta do GeoCAT indicou que, de acordo com todas as localidades (Tab. 2),
11 *C. januariense* encontra-se num status de ameaça menos preocupante (LC) quanto à extensão
12 de ocorrência equivalente a 125,795.940 km², porém em perigo (EN), de acordo com a área
13 de ocupação (com raio de 2km) equivalente a 48.000 km².

14

15 **Distribuição geográfica potencial**

16 As variáveis bio1, bio5, bio6, bio7, bio9, bio10, bio11, bio13, bio15, e bio18
17 apresentaram contribuição inferior a 1% no SDMp (Tabela S1). bio4, bio8, bio16, bio17,
18 bio19 e alt apresentaram colinearidade com as camadas de maior contribuição no SDMp (Fig.
19 1). Desse modo, o melhor conjunto de variáveis preditoras da ocorrência de *C. januariense* no
20 *Background* foi bio2, bio3, bio14 e bio12, as quais apresentaram contribuição percentual no
21 SDMf de 43.8%, 26.2%, 3.7% e 1.2%, respectivamente.

22 As curvas de resposta dessas variáveis evidenciaram que *C. januariense* ocorre em
23 ambientes com baixa pluviosidade durante os meses quentes e secos (bio14), porém
24 constantes ao longo do ano (bio12) (Fig.1). As curvas de resposta das variáveis bio2 e bio3
25 evidenciaram que a distribuição de *C. januariense* ajusta-se melhor aos ambientes com baixa

1 relação entre variação diurna da temperatura mensal e o intervalo da temperatura entre os
2 meses mais quentes e mais frios.

3 O SDMf indicou *pixels* com escala ambiental variando de 0 a 0.97 e *Threshold* de
4 0.246. A área ambientalmente adequada à ocorrência de *C. januariense* no SDMf foi de
5 219.720 Km², o equivalente a 2.15% do *Background* (limite do Brasil) (Fig. 2). Foram
6 registrados três erros causados por omissão no SDMf. Entretanto, o AUC (0.992) resultante
7 do teste interno e o $p < 0.001$ do teste binomial ($t=1$) indicaram que o modelo teve
8 desempenho satisfatório e diferente do acaso.

9 A distribuição potencial de *C. januariense* pelo SDMf indicou áreas ao longo da faixa
10 litorânea Brasileira, desde o sul do Rio Grande do Sul até a região costeira central da Paraíba
11 (Fig. 2). No interior do continente, manchas isoladas e pouco representativas foram indicadas
12 na porção central do estado do Rio Grande do Sul e no norte do estado de São Paulo. As áreas
13 com adequabilidade ambiental superior a 0.7 apontaram manchas maiores que 2.100 Km²
14 para as regiões litorâneas da Bahia, Santa Catarina, centro e norte do Rio de Janeiro e centro-
15 sul do Rio Grande do Sul (Fig. 2). Dentre os ecossistemas manchados pelo SDMf (Pampas,
16 Floresta Atlântica, Cerrado e Caatinga) apenas o Cerrado não apresentou áreas com
17 adequabilidade ambiental acima de 0.7 para a ocorrência de *C. januariense* (Fig. 3). No
18 entanto, a Floresta Atlântica destacou-se por abranger 72.54% da sua área manchada pelo
19 SDMf. A Caatinga, os Pampas e o Cerrado corresponderam a 17.52%, 9.75% e 0.1 da área
20 indicada pelo SDMf, respectivamente.

21 As áreas preditas pelo SDMf sobrepuseram 366 UCs, que juntas representaram
22 14.76% da área total indicada pelo modelo. Dessas UCs, 107 destacaram-se por contemplar
23 áreas com adequabilidade ambiental acima de 0.7 para a ocorrência de *C. januariense*. Dentre
24 essas, destacam-se as Áreas de Proteção Ambiental- APAs (Serra de Sepiatiba, Massambaba e
25 Serras de Maricá), os Parques Estaduais- PE (Costa do Sol, Lagoa do Açú e Rio Vermelho), o
26 Refúgio de Vida Silvestre- RVS Matas do Sistema Gurjaú, a Reserva Biológica- REBIO de

1 Poço das Antas e a Reserva Particular do Patrimônio da Natureza- RPPN Fazenda Caruara
2 por apresentarem mais de 10 Km² de extensão e estarem manchadas em mais que 50% da área
3 da unidade (Fig. 4). Dos 19 registros de ocorrência conhecidos para a espécie, apenas sete
4 estão contemplados por Unidades de Conservação.

5 Da área total predita pelo SDMf 43.25% mancharam APCs, percentual que contempla
6 272 APCs. Dessas APCs contempladas pelo SDMf, 71 apresentaram adequabilidade
7 ambiental acima de 0.70 para a ocorrência da espécie. Dessas, destacam-se as APCs Arraial
8 do Cabo, Bacaxá, Butiazal de Laguna, Cabo Frio, Corredor Mico Leão, Corredor PAREST
9 Serra do Tabuleiro, Entorno de Carijós, Farol de São Tomé, Itaocaia, Lagoa de Araruama,
10 Lagoa de Itaipu-morro das andorinhas, Lagoas costeira do estado do Rio, Lagoas de
11 Saquarema, Maciço Cristalino Norte da Ilha de SC, Maciço Cristalino Sul da Ilha de SC,
12 Mangue do Lameirão, Mirim, Passarim, Serra da Pioneira/Serra da Jibóia, Banhado do
13 Maçarico e cordões litorâneos anexos, Sistema Bujuru e Banhado de Estreito (Fig. 4), por
14 apresentarem mais de 50% de suas áreas preditas como ambientalmente adequadas à
15 ocorrência da espécie.

16

17 **DISCUSSÃO**

18 Modelos de distribuição de espécie tem se mostrado eficientes na seleção de preditores
19 ambientais no entendimento do potencial biogeográfico de espécies. O fato da ocorrência de
20 *C. januariense* se correlacionar inversamente com a amplitude diurna média mensal (bio2) e a
21 isothermalidade (bio3), evidenciam que essa espécie está melhor adaptada a locais com baixa
22 variação térmica entre o dia e a noite e entre os meses mais quentes e mais frios do ano. Essa
23 constatação corrobora com os resultados obtidos por Paula (2006), Sá & Araújo (2009) e
24 Palazzo *et al.* (2010), quando estes mencionam a adaptação de *C. januariense* para a
25 vegetação de restinga, que por estar mais próxima do mar sofre influência da maritimidade

1 (Sugiyama 1998), estando sujeita a presença de uma grande massa líquida que atua como um
2 regulador térmico, fazendo com que a amplitude térmica se mantenha constante.

3 Atualmente, a distribuição geográfica de *C. januariense* é conhecida apenas para os
4 estados da Bahia, Espírito Santo e Rio de Janeiro (Carneiro *et al.* 2018). Entretanto, o mapa
5 obtido do SDMf indicou extensas manchas ambientalmente ajustadas à sua sobrevivência nas
6 regiões litorâneas dos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina, Paraná, São Paulo,
7 Sergipe, Alagoas e Pernambuco, ratificando a preferência da espécie por ecossistemas sob
8 influência marítima (Palazzo 2010; Carneiro *et al.* 2015). Embora o SDMf também tenha
9 manchado áreas de transição entre a floresta Atlântica e a Caatinga nos estados de Sergipe e
10 Bahia (setas azuis, Fig. 3). O resultado da AUC e teste binomial evidenciaram que os
11 procedimentos de otimização da SDMf foram capazes de definir áreas ambientalmente
12 adequadas à ocorrência da espécie (Phillips *et al.* 2004, 2006), reforçando a possibilidade de
13 novos registros de *C. januariense* nos supracitados estados.

14 Foi constatado que a atual rede de áreas protegidas do Brasil (Sistema Nacional de
15 Unidades de Conservação - SNUC) apresenta lacunas de conservação para *C. januariense* e
16 dos 13 registros apenas sete são abrangidos por UCs (APA da Massambaba, Parque Estadual
17 Paulo César Vinha, Reserva Ecológica Estadual de Jacarepiá, Reserva Ecológica de
18 Jacarenema, Reserva Florestal de Linhares, Reserva Natural da Vale e RPPN Fazenda
19 Lontra/Saudade).

20 A indicação de áreas ambientalmente adequadas para a ocorrência de *C. januariense*
21 pelo SDMf em APCs e UCs demonstra a importância desse tipo de unidade para a
22 manutenção da espécie em ambientes naturais. O status “extinto” (classificação atual IUCN)
23 ratifica a importância das nove UCs e 22 APCs destacadas com elevada adequabilidade
24 ambiental (>0.70) no SDMf. Por isso, sugerimos esforços de coleta direcionado nessas áreas.

25 Caso tenhamos a ampliação dos registros de ocorrência da espécie para as APCs ou
26 UCs indicadas na SDMf, nossos resultados poderão direcionar e complementar futuras

1 discussões sistêmicas sobre seleção ou valoração de APCs e UCs. Estudos de SDM são
2 importantes nas etapas iniciais do processo de seleção ou indicação de áreas com alto valor
3 para a conservação da biodiversidade (Myers *et al.* 2000; Koch *et al.* 2017).

4 Com base nos resultados obtidos, pode-se inferir que *C. januariense* ajusta-se melhor a
5 regiões de pouca amplitude térmica diurna e anual, com baixa pluviosidade durante os meses
6 quentes e secos. Entretanto, apresentando-se constantes ao longo do ano. Os recentes registros
7 de coleta indicam que a mesma não se encontra “extinta”, porém com baixo número de
8 indivíduos em fragmentos de Floresta Atlântica. Várias regiões litorâneas do Brasil que ainda
9 não tem registro de *C. januariense* apresentaram elevada adequabilidade ambiental para sua
10 ocorrência, segundo nosso modelo. Dentre essas áreas, destacamos manchas no Pampa (Rio
11 Grande do Sul) e na Floresta atlântica da Bahia e Santa Catarina.

12 Acreditamos que o baixo número de taxonomistas especialistas em *Chrysophyllum*
13 possa ter interferido no conhecimento biogeográfico de suas espécies no Brasil. Diante dessa
14 constatação, dos recentes registros de *C. januariense* no Brasil e da ampliação do
15 conhecimento biogeográfico que apresentamos nesse manuscrito, acreditamos que essa
16 espécie esteja mal categorizada quanto seu status de conservação. Assim, sugerimos sua
17 recategorização de “extinta” para em perigo (EN) de extinção (critério C2a). Segundo o
18 critério C2a, a população estimada da espécie alvo deve ter número inferior a 250 indivíduos
19 maduros, em um declínio contínuo e gravemente fragmentado (ou seja, nenhuma
20 subpopulação estimada para conter mais de 250 indivíduos maduros). Desse modo, a iminente
21 necessidade de esclarecer a distribuição real de espécies ameaçadas de extinção e os
22 parâmetros associados a esse aspecto, o nosso trabalho seja um marco fomentador de
23 informações, com vista à conservação e detecção de padrões biogeográficos relacionados a
24 representantes da flora do Brasil.

25

26

1 **AGRADECIMENTOS**

2 Agradecemos ao Laboratório de Florística e Ecossistemas Costeiros da Universidade Federal
3 Rural de Pernambuco por fornecer a infraestrutura necessária para este estudo. Este trabalho
4 foi apoiado por uma bolsa de pesquisa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico
5 e Tecnológico (CNPq).

6

1 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

2

3 Armstrong K. 2010. Systematics and biogeography of the pantropical genus *Manilkara*
4 Adans. (Sapotaceae). 226 f. Doctor of Philosophy, Institute of Evolutionary Biology School
5 of Biological Sciences, University of Edinburgh & Royal Botanic Garden Edinburgh.

6

7 Ayres M, Ayres MJ, Ayres DL, Santos SA. 2007. Bioestat 2.0: aplicações estatísticas nas
8 áreas das ciências biológicas e médicas. Sociedade Civil Mamirauá/CNPq, Brasília.

9

10 Bachman S, Moat J, Hill AW, de la Torre J, Scott B. 2011. Supporting Red List Threat
11 assessments with GeoCAT: geospatial conservation assessment tool. In: Smith V, Penev L.
12 (Eds) e-Infrastructures for data publishing in biodiversity science. Zookeys 150:117-126. doi:
13 10.3897/zookeys.150.2109.

14

15 Bergamin RS, Mondin CA. 2006. Composição florística e relações fitogeográficas do
16 componente arbóreo de um fragmento florestal no município de Barra do Ribeiro, Rio Grande
17 do Sul, Brasil. Pesquisas, Botânica 57:217-230.

18

19 Brandão CFLS, Marangon LC, Lins e Silva ACB. 2009. Estrutura fitossociológica e
20 classificação sucessional do componente arbóreo em um fragmento de floresta Atlântica em
21 Igarassu. Revista Brasileira de Ciências Agrárias 4(1):55-61. doi: 10.5039/agraria.v4i1a9.

22

23 Carneiro CE, Alves-Araújo A, Almeida-Jr EB, Terra-Araújo MH. 2015. *Sapotaceae*. In: *Lista*
24 *de Espécies da Flora do Brasil*, 2015 Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:
25 <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000217>>. Acesso: 02 out. 2018.

26

- 1 Carvalho FA, Nascimento MT, Braga JMA. 2006. Composição e riqueza florística do
2 componente arbóreo da floresta Atlântica submontana na região de Imba, Município de Silva
3 Jardim, RJ. Acta botânica brasílica 20(3):727-740. doi: 10.1590/S0102-33062006000300022.
4
- 5 Carvalho Ld'AF, Costa LHP, Duarte AC. 2001. Diversidade taxonômica e distribuição
6 geográfica das solanáceas que ocorrem no Sudeste Brasileiro (*Acnistus*, *Athenaea*, *Aureliana*,
7 *Brunfelsia* e *Cyphomandra*). Rodriguésia 52(80):31-45. doi: 10.1590/2175-78602001528003.
8
- 9 Corrêa RS, Filho BM. 2007. Levantamento florístico do estrato lenhoso das áreas mineradas
10 no distrito federal. Revista Árvore 31(6):1099-1108. doi: 10.1590/S0100-
11 67622007000600015.
12
- 13 Costa-Jr RF, Ferreira RLC, Rodal MJN, Feliciano AJP, Marangon LC, Silva WC. 2007.
14 Florística arbórea de um fragmento de floresta Atlântica em Catende, Pernambuco – Nordeste
15 do Brasil. Revista Brasileira de Ciências Agrárias 2(4):297-302.
16
- 17 Dantas HGR, Lima HCD, Bohrer CBDA. 2009. Mapeamento da vegetação e do paisagismo
18 do município de Armação de Búzios, Rio de Janeiro, Brasil. Rodriguésia 60(1):25-38. doi:
19 10.1590/2175-7860200960102.
20
- 21 De Marco-Junior P, Siqueira M. 2009. Como determinar a distribuição potencial de espécies
22 sob uma abordagem conservacionista? Megadiversidade 5:65-76.
23
- 24 Elith J, Phillips SJ, Hastie T. 2011. A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. Divers
25 Distrib 17(1):43-57. doi: 10.1111/j.1472-4642.2010.00725.x.
26

- 1 Fielding AH, Bell JF. 1997. A review of methods for the assessment of prediction errors in
2 conservation presence/absence models. *Environ. Conserv.* 24(1):38-49. doi:
3 10.1017/s0376892997000088.
- 4
- 5 Giannini TC, Siqueira MF, Acosta AL, Barreto FCC, Saraiva AM, Alves-dos-Santos I. 2012.
6 Desafios atuais da modelagem preditiva de distribuição de espécies. *Rodriguésia* 63(3):733-
7 749. doi: 10.1590/S2175-78602012000300017.
- 8
- 9 Govaerts R, Frodin DG, Pennington TD. 2001. World checklist and bibliography of
10 Sapotaceae. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- 11
- 12 Guisan A, Thuiller W. 2005. Predicting species distribution: offering more than simple habitat
13 models. *Ecol Lett* 8:993-1009. doi: 10.1111/j.1461-0248.2005.00792.x
- 14
- 15 IUCN Standards and Petitions Working Group. 2010. Guidelines for using the IUCN Red
16 List: categories and criteria. Versão 8.1. Disponível em:
17 <https://portals.iucn.org/library/node/12732>. Acesso em: 23 de nov. 2018.
- 18
- 19 IUCN - The World Conservation Union. IUCN Red List of Threatened Species. 2018.
20 Disponível em: <www.iucnredlist.org>. Acesso em 05 fev 2018.
- 21
- 22 Kamino LHY, Stehmann JR, Amaral S *et al.* 2011. Challenges and perspectives for species
23 distribution modeling in the neotropics. *Biol Lett* 8(3):324-326. doi: 10.1098/rsbl.2011.0942.
- 24
- 25 Koch R, Almeida-Cortez JS, Kleinschmit B. 2017. Revealing areas of high nature
26 conservation importance in a seasonally dry tropical forest in Brazil: Combination of

- 1 modelled plant diversity hot spots and threat patterns. *J Nat Conserv* 25:24-39. doi:
2 10.1016/j.jnc.2016.11.004
3
- 4 Kurtz BC, Sá CFC, Silva DOD. 2009. Fitossociologia do componente arbustivo-arbóreo de
5 florestas semidecíduas costeiras das região de Emerenças, área de Proteção Ambiental Pau-
6 Brasil, Armação de Búzios, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 60(1):129-146. doi:
7 10.1590/2175-7860200960107.
8
- 9 MMA – Ministério do meio ambiente. 2017. Dados geográficos: Áreas especiais – unidades
10 de conservação. Disponível em: <<http://mapas.mma.gov.br/i3geo/datadownload.htm>>. Acesso
11 em: 02 out 2017.
12
- 13 Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J. 2000. Biodiversity
14 hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853-858. doi:
15 10.1093/acrefore/9780199389414.013.95.
16
- 17 Nunes YRF, Mendonça AVR, Botezelli L, Machado ELM, Oliveira-Filho AT. 2003.
18 Variações da fisionomia, diversidade e composição de guildas da comunidade arbórea em um
19 fragmento de floresta semidecidual em lavras, MG. *Acta botanica brasílica* 17(2):213-229.
20 doi: 10.1590/s0102-33062003000200005.
21
- 22 Palazzo FMA, Monteiro MHDA, Andreatta RHP. 2012. *Chrysophyllum januariense* Eichl.
23 (Sapotaceae): nova ocorrência para o brasil e descrição do fruto. *Pesquisas, Botânica* 63:213-
24 218.
25

- 1 Palazzo FMDA, Dias-Neto ADO, Monteiro MHDA, Andreato RHP. 2010. Sinopse
2 comentada de Sapotaceae no município de Rio das Ostras (RJ, Brasil). Pesquisas, Botânica
3 61:293-306.
- 4
- 5 Paula, A de. 2006. Florística e Fitossociologia de um trecho de Floresta ombrófila densa das
6 Terras Baixas na Reserva Biológica de Sooretama, Linhares - ES. Tese de Doutorado. São
7 Carlos: Universidade Federal de São Carlos.
- 8
- 9 Pearson RG, Pearson RG, Raxworthy CJ, Nakamura M, Peterson AT. 2007. Predicting
10 species' distributions from small numbers of occurrence records: a test case using cryptic
11 geckos in Madagascar. J. Biogeogr. 34:102-117. doi: 10.1111/j.1365-2699.2006.01594.x.
- 12
- 13 Pennington TD. 1991. The genera of Sapotaceae. The Royal Botanical Garden, Kew.
- 14 Pennington, TD. 2006. Sapotaceae. In: Flora da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil.
15 Rodriguésia 57:251-366. doi: 10.1590/2175-78602005568602.
- 16
- 17 Pires O'BJ. 1998. *Chrysophyllum januariense*. The IUCN Red List of Threatened Species
18 1998. Disponível em:
19 <<http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.1998.RLTS.T35379A9924296.en.>> Acesso em: 30 Out.
20 2018.
- 21
- 22 Phillips SJ, Anderson RP, Schapire RE. 2006. Maximum entropy modeling of species
23 geographic distributions. Ecol. Model. 190:231-259. doi: 10.1016/j.ecolmodel.2005.03.026.
- 24
- 25 Phillips SJ, Dudík M, Schapire RE. 2004. A maximum entropy approach to species
26 distribution modeling. In: International Conference on Machine Learning (ed.), Proceedings

- 1 of the 21st International Conference on Machine Learning. ACM Press, New York, p. 655-
2 662.
- 3
- 4 Sá CFCD. 2002. Regeneração de um trecho de floresta de restinga na Reserva Ecológica
5 Estadual de Jacarepiá, Saquarema, Estado do Rio de Janeiro: II - Estrato arbustivo.
6 *Rodriguésia* 53(82):5-23. doi: 10.1590/2175-78602002538201.
- 7
- 8 Sá CFCD, Araujo DSDD. 2009. Estrutura e florística de uma floresta de restinga em
9 Ipitangas, Saquarema, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 60(1):147-170. doi: 10.1590/2175-
10 7860200960108.
- 11
- 12 Sossai BG, Alves-Araújo A. 2017. Flora do Espírito Santo: *Chrysophyllum* (Sapotaceae).
13 *Rodriguésia* 68(5): 1857-1870. doi: 10.1590/2175-7860201768519.
- 14
- 15 Sugiyama M. 1998. Estudo de florestas da restinga da Ilha do Cardoso, Cananéia, São Paulo,
16 Brasil. *Bol. Inst. Bot. (São Paulo)* 11:119-159.
- 17
- 18 The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/>
19 (accessed 1st January).
- 20

- 1 **Figura 1.** Curvas de resposta logística da ocorrência de *C. januariense* por camada ambiental
- 2 com contribuição superior a 1% em SDMp (A) e curvas de resposta logística da ocorrência de
- 3 *C. januariense* por camada ambiental com contribuição superior a 1% em SDMp, tendo as
- 4 demais camadas como co-variáveis (B).
- 5

- 1 **Figura 2.** SDMf para *C. januariense* pelos limites estaduais. Círculos em azul apontam
- 2 manchas com adequabilidade ambiental superior a 0.7
- 3

- 1 **Figura 3.** SDMf para *C. januariense* pelos Ecosistemas. Setas em azul indicam manchas sob
- 2 áreas do agreste (zonas de transição fitogeográfica).
- 3
- 4

1 **Figura 4.** SDMf para *C. januariense* pelas UCs com mais de 10 Km² de extensão e
2 manchadas em mais que 50% da área com adequabilidade ambiental >0.7. 1- RVS Matas do
3 Sistema Gurjaú; 2- RPPN Fazenda Caruara; 3- PE Lagoa do Açú; 4- REBIO Poço das Antas;
4 5- APA da Serra De Sapatiba; 6- PE Costa do Sol; 7- APA Massambaba; 8- APA Serras De
5 Maricá; 9- PE Rio Vermelho.

6

7

1 **Tabela 1.** Registros de *C. januariense* acurados e sem influência do viés de autocorrelação
2 espacial.

3

4

1 **Tabela 2.** Contribuição percentual de variáveis para a geração do modelo preliminar - SDMp
2 de distribuição geográfica potencial de *C. januariense*. Legenda: (*) Variáveis colineares.

3

4

1 **MATERIAL SUPLEMENTAR**

2 **Tabela S1.** Nomenclatura, abreviação, plataforma de *download* e fonte das camadas

3 bioclimáticas utilizadas na computação dos modelos.

4

1

2

3

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através da realização desse trabalho foi possível reunir informações sobre o gênero *Chrysophyllum* L. (Sapotaceae), contribuindo para a elucidação de relações filogenéticas intergenérica e interespecíficas. Desse modo, evidenciamos que o gênero *Chrysophyllum* é circunscrito apenas pelas seções *Chrysophyllum* e *Villocuspis*. A seção *Villocuspis* só pode ser monofilética através da inclusão de *C. rufum*. A seção *Chrysophyllum* não é um grupo natural e precisa ser melhor explorada em outros estudos. Desta forma, este trabalho trouxe novos dados para o gênero como também forneceu caracteres taxonomicamente úteis para uma melhor interpretação da história evolutiva de *Chrysophyllum* sect. *Villocuspis*, dando suporte a outros estudos filogenéticos. Quanto à distribuição geográfica de *C. januariense* foi possível esclarecer a distribuição real, evidenciando que a mesma precisa ser recategorizada de extinta para em perigo de extinção, segundo os critérios da União Internacional para Conservação da Natureza. Além disso, o modelo preditivo evidenciou áreas ambientalmente adequadas à ocorrência da espécie ao longo do litoral brasileiro, principalmente em áreas de unidades de conservação.

6. NORMAS DAS REVISTAS

Acta Botanica Brasilica:

<<http://www.scielo.br/revistas/abb/iinstruc.htm>>

Plant Systematics and Evolution:

<<https://www.springer.com/life+sciences/plant+sciences/journal/606>>

ANEXOS



Leaf Morphoanatomy of *Diploon* Cronquist (Sapotaceae Juss.)

Renata Gabriela Vila Nova de Lima^{1*},  Liliane Ferreira Lima¹, Angélica Cândida Ferreira¹, Josiane Silva Araújo² &

Carmen Silvia Zickel¹ 

¹Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE, Brasil.

²Universidade Estadual do Piauí, Departamento de Biologia, BR 343, s/n, Bairro Campo Velho, 64800-000, Floriano, PI, Brasil

*Corresponding author: Renata Gabriela Vila Nova de Lima, e-mail: renatagvn@hotmail.com

LIMA, R.G. V. N.; LIMA, L.F.; FERREIRA, A. C.; ARAÚJO, J. S.; ZICKEL, C. S. Leaf Morphoanatomy of

Diploon Cronquist (Sapotaceae Juss.) Biota Neotropica. 19(1): e20180600. <http://dx.doi.org/10.1590/1676-0611-BN-2018-0600>

Abstract: *Diploon* is a monospecific genus represented by *Diploon cuspidatum*, an arboreal species that has morphological characteristics distinct from those of other Sapotaceae species. In this study, *Diploon cuspidatum* leaves were characterized morphoanatomically in order to reveal additional diagnostic characters of their external morphology of the genus. The *Diploon* petiole presents shape and arrangement of the vascular system flat-convex, occasionally with one or two accessory bundles, many laticifers, and many prismatic crystals. The midrib is biconvex with a U-shaped cuticle on the abaxial side, and laticifers are associated with the vascular tissues. Mesophyll is dorsiventral, palisade parenchyma has two cell layers, T- and Y-shaped malpighiaceae trichomes are on the abaxial epidermis with a small stalk cell and long arm. The venation pattern is brochidodromous. Intersecondary veins run parallel to the secondary veins, and quaternary veins branch freely. Higher order veins are not present. Morphoanatomical analysis revealed important characteristics that reveal a set of structures common to Sapotaceae, in addition to characters that are important for the recognition and identification of *D. cuspidatum*.

Keywords: Leaf anatomy, leaf architecture, micromorphology, taxonomy, Chrysophylloideae.

Morfoanatomia Foliar de *Diploon* Cronquist (Sapotaceae Juss.)

Resumo: *Diploon* é um gênero monoespecífico representado por *Diploon cuspidatum*, espécie arbórea com características morfológicas peculiares em relação a outros gêneros de Sapotaceae. A espécie teve suas folhas caracterizadas morfoanatomicamente, a fim de fornecer caracteres diagnósticos adicionais à morfologia externa, subsidiar pesquisas no âmbito da anatomia vegetal, dendrologia e filogenia. *D. cuspidatum* evidenciou pecíolo plano-convexo, com feixe vascular plano-convexo, presença ocasional de até dois feixes acessórios, presença de muitos laticíferos e cristais prismáticos. A nervura central é biconvexa, com cutícula em forma de U no lado abaxial, laticíferos associados aos elementos vasculares. Mesófilo dorsiventral, parênquima paliádico com duas camadas descontínuas, tricomas malpighiáceos do tipo T e Y na epiderme abaxial com pedúnculo pequeno e braço longo. O padrão de venação é do tipo broquidódroma. Veias intersecundárias paralelas as veias secundárias, veias quaternárias em ramos livres. Ausência de veias de ordem superior. A análise morfoanatômica realizada evidenciou caracteres importantes que retratam um conjunto de estruturas comuns a Sapotaceae e também importantes para reconhecimento e identificação *D. cuspidatum*.

Palavras-chave: Anatomia foliar, Arquitetura foliar, micromorfologia, taxonomia, Chrysophylloideae.

Introduction

Sapotaceae is a family with a pantropical distribution that includes about 60 genera and 1300 species (Pennington 1991; Govaerts *et al.* 2001, The PlantList 2013). It is one of the largest families of eudicots. It is known for having species of great morphological diversity that are especially important in lowland wet tropical forests because they provide essential resources to native fauna and humans (Lawrence 1951, Barroso 1978, Pennington 1991, Felippi *et al.* 2008, Gomes *et al.* 2008, Reis *et al.* 2013). In Brazil, there are approximately 234 species distributed in 12 genera (Carneiro *et al.* 2015). Among these is *Diploon* Cronquist, which is of particular importance because of its peculiar reproductive morphology.

Diploon is a monospecific genus represented by *Diploon cuspidatum* (Hoehne) Cronquist, which has as its basionym *Chrysophyllum cuspidatum* Hoehne. This arboreal species has alternating leaves, axillary flowers, basally connate petals, and it lacks staminodes. Its ovary is glabrous and unilocular with two ovules, and it has basal placentation, in addition to succulent fruits containing a single seed that has a small, basilateral scar and no endosperm (Pennington 1990, 1991). Together, these characters contribute to a good generic delimitation because some features of the genus *Diploon* are not common in other Sapotaceae, which facilitates its identification. Despite having a distinct reproductive morphology (unilocular ovary and biovular with basal placentation), *Diploon* shares morphological, anatomical, chemical, and phylogenetic characteristics with other Sapotaceae genera (Cronquist 1946, Kukachka 1979, Pennington 1990, Swenson & Andeberg 2005).

Diploon cuspidatum, popularly known as “bapeba-preta” or “bapeba-roxa,” is native to Brazil, but it can also be found in Bolivia, Guyana, and Peru (Pennington 1990). In Brazil, it is distributed throughout two phytogeographic domains: the Amazon and the Atlantic Forest, occurring in the North, Northeast, Southeast, and South regions of the country (Carneiro *et al.* 2015). Although it is a relatively well-distributed species, *D. cuspidatum* is present in biomes regarded as biodiversity hotspots, which face serious environmental threats caused by the most diverse anthropic disturbances. Because of the richness in flora and fauna, these areas require more studies to expand our knowledge of the biology of their species. Concerning *D. cuspidatum*, the literature has been largely restricted to references to local flora and floristic surveys (Kurtz & Araújo 2000, Alves-Araújo & Alves 2010, Palazzo *et al.* 2010, Barreto & Catharino 2015) that gathered data on geographic distributions, identification keys, or morphological descriptions. Anatomical studies are even scarcer, even though they are relevant to our understanding of a species' biology and they provide data to support taxonomic, dendrological, micromorphological, and phylogenetic studies.

In the last proposals regarding the taxonomic classification of Sapotaceae (Pennington 1991, Swenson & Andeberg 2005), the positioning of the genus *Diploon* in the family was mainly based on its floral morphology and the presence of chemical components (flavonoids). Kukachka (1979) showed common anatomical characters between *Diploon* and the other genera of the family after analyzing woods of neotropical Sapotaceae. Regarding leaf architecture, Pennington (1990) used different terminology to describe the foliar venation pattern in *Diploon* and other genera, revealing useful features to identify *D. cuspidatum*, which, in the vegetative state, may be similar to some *Micropholis* (Griseb.) Pierre species. These data, along with current research on other Sapotaceae genera (Monteiro *et al.* 2007a, Almeida-Jr *et al.* 2012),

show that morphoanatomical studies can contribute significantly to plant systematics at different hierarchical levels. Therefore, the present study aimed to characterize and discuss the leaf morphoanatomy of *D. cuspidatum* from a taxonomic perspective in order to identify diagnostic characters that contribute to our knowledge of this genus.

Material and Methods

This study was based on the collection of *Diploon* specimen branches found in the Atlantic and Amazon Forest (in Brazil's North and Northeast areas), in addition to the analysis of material deposited in the national herbarium (BHCB, ESA, HEPH, HRBC, IAC, IAN, INPA, MBML, PEUF, SPSF, UB, and VIC).

The material used to perform the anatomical analysis was obtained during field expeditions and from herbarium samples (voucher: IAC43362, IAN123562, PEUFR53995, PEUFR53996 and SPSF3507).

Samples were selected according to the following criteria: 1) herbal material in good preservation state, 2) reliable taxonomic identification, and 3) presence of fully expanded leaves.

The botanical material was submitted to a process of reverse herborization according to Smith & Smith (1942). The process consisted of treating the samples with 2% sodium hydroxide for 2 h, washing them in distilled water, and dehydrating them in graded ethanol solutions. Subsequently, samples were stored in 70% ethanol until the anatomical slides were prepared.

Free-hand transverse sections were cut from the petiole (apex, middle, and base regions) and the middle region of the leaf blade. Sections were clarified in 50% sodium hypochlorite and stained with Astra blue and basic fuchsin. Samples were mounted on slides using glycerinated gelatin and sealed with colorless nail polish (Kraus & Arduin 1997).

For the analysis of leaf architecture, diaphanization was carried out according to the protocol developed by Shobe & Lersten (1967 *apud* Kraus & Arduin 1997). The clarified samples were then washed in distilled water, dehydrated in an ethanol series, and stained with basic fuchsin in 50% ethanol. Samples were mounted with glycerinated gelatin (Kaiser 1880), and slides were sealed with colorless nail polish (Kraus & Arduin 1997).

Morphoanatomical analysis was performed using an optical microscope (L2000i, Bioval), and images were obtained using a digital camera (Digital Microscope Imager, 44421, Celestron) attached to the microscope.

Leaf blades, petioles, and trichome characters were described in accordance with the terminology of Metcalfe & Chalk (1983), Howard (1979), and Theobald *et al.* (1979), respectively. The description of leaf venation patterns was based on the terminology of Ellis *et al.* (2009).

Results

D. cuspidatum (Figure 1a) leaves are simple, alternate distichous or weakly spiralled. The leaf blade varies from elliptic to oblanceolate, the apex is acuminate or rarely attenuate and the base is attenuate-cuneate, chartaceous. The adaxial side is glabrous, while the abaxial side is glabrous to glabrescent (Figure 1b, 1c). The leaf blade has a striated appearance created by the course of secondary and intersecondary veins (Figure 1c). The petiole is canaliculate and subglabrous.

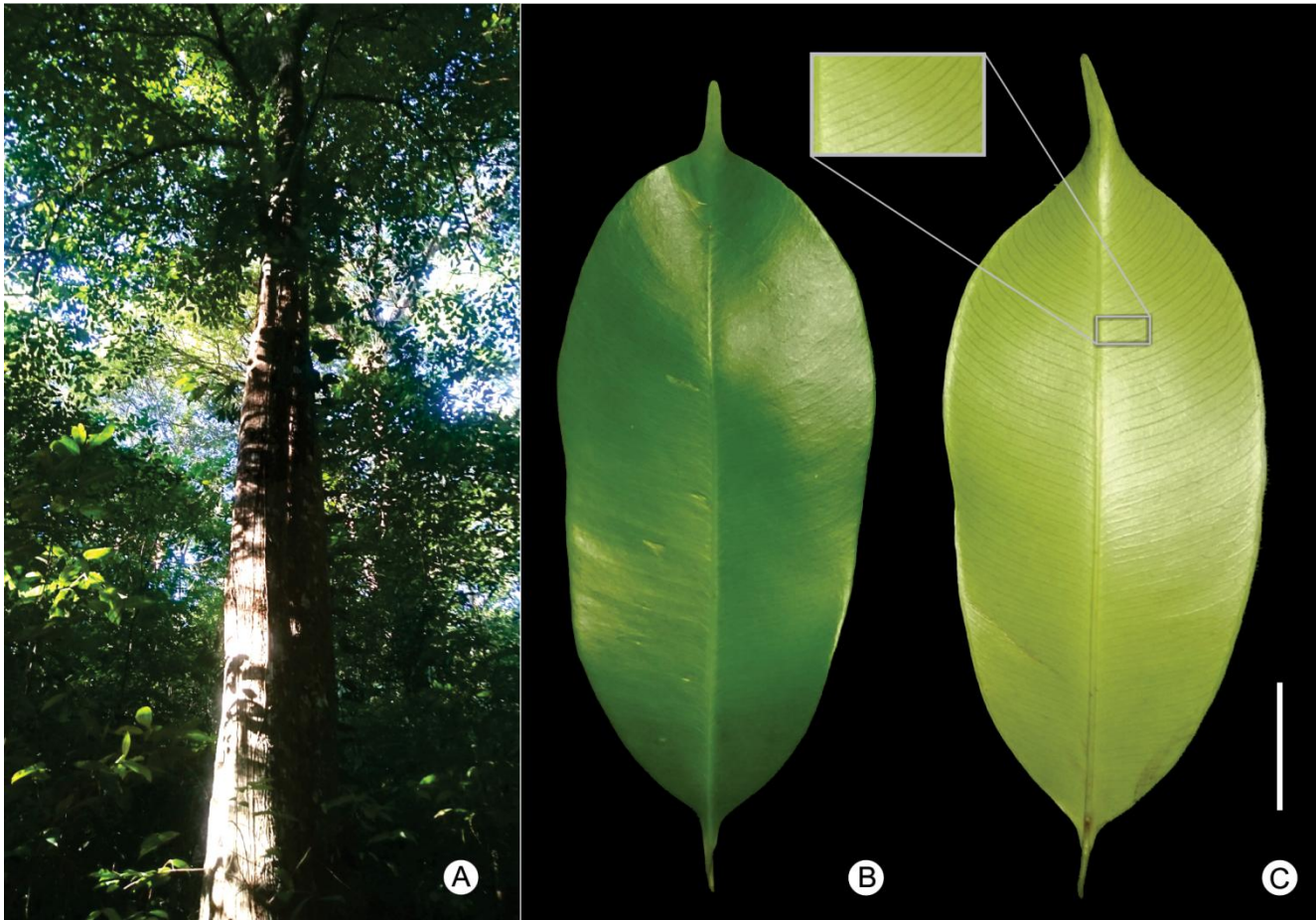


Figure 1. *Diploon cuspidatum* (Hoehne) Cronquist. **A.** Individual located at the Parque Estadual Dois Irmãos, PE, Brazil; **B.** Leaf blade showing the adaxial side; **C.** Leaf blade showing the abaxial side and detailing the venation pattern. * Scale bar: 2.00 cm.

The analysis of leaf architecture allowed the identification of a lower frequency. The vascular bundle, which is present in the middle brochidodromous venation pattern with a pinnate midrib (Figure 2a). and the petiole, is flat-convex (Figure 2c). One or two accessory bundles Secondary veins are excurrent from the primary vein, and they branch out surrounded by a sclerenchymatous sheath are observed. Laticifers and without reaching the margin, which is formed by submarginal veins prismatic crystals are present in the medullar region.

(Figure 2a). The spaces between adjacent secondary veins are regular, The leaf blade has a thicker cuticle on the adaxial side compared to the and the angle between the primary vein and secondary veins increases abaxial side. On both sides, the epidermis is unstratified and formed smoothly as these approach the leaf base. Intersecondary veins are 50% mainly by quadrangular cells. The abaxial side, however, displays greater in length than lower secondary veins, and they run parallel to simple, unicellular, T- or Y-shaped malpighiaceus trichomes with a short secondary veins. It is possible to observe one or more per intercostal area peduncle and long arms, which are concentrated close to the midrib (Figure 2a). Intercostal tertiary veins display an alternate percurrent course, (Figure 2g). Leaves are hypostomatic and have anisocytic stomata. In crossing the midrib in a reticulate pattern (Figure 2b). External tertiary cross-section, guard cells are on the same level as other epidermal cells. veins are also observed, ending at the leaf margin parallel to the The mesophyll is dorsiventral and consists of two discontinuous layers of secondary veins. Quaternary veins end freely in a single branch (Figure palisade parenchyma followed by 10 layers of spongy parenchyma 2b). Higher order veins were not observed. (Figure 2d). The palisade parenchyma of the mesophyll sometimes

In cross-section, the petiole has a flat-convex shape (Figure 2c), and extends into the region of the midrib that is interrupted by annular when it is close to the leaf base, it presents two lateral projections in the collenchyma. Laticifers and collateral bundles occur throughout the adaxial portion, resulting in the canaliculate morphology of the petiole mesophyll, and sclereids are present in the abaxial side of the leaf blade observed as part of the external morphology. The epidermis is (Figure 2d).

unstratified with cells that are usually quadrangular and covered by a thin In cross-section, the midrib is biconvex (Figure 2e). The epidermis layer of cuticle. It is possible to observe scars left by trichomes. Below displays quadrangular cells, and is covered by a U-shaped cuticle that is the epidermis, there is a continuous layer of collenchyma tissue followed thicker on the abaxial side. There are four to five layers of annular by parenchyma. This region has a higher concentration of solitary collenchyma just below the epidermis. It should be noted that laticifers and prismatic crystals are more frequent in the midrib than in the laticifers, however, can be found over the entire petiole at mesophyll (Figure 2f, 2h). The vascular system is collateral, and it has

Morphoanatomy of *Diploon* Cronquist

Figure 2. Morphoanatomic characters of *D. cuspidatum*. **A–B.** Venation pattern showing primary, secondary, intersecondary, tertiary, and quaternary veins; **C.** Cross-section of the petiole with accessory bundles (arrows); **D.** Cross-section of the leaf blade; **E.** Cross-section of the mesophyll; **F.** Laticifers in the midrib; **G.** Malpighiaceae trichomes on the abaxial face; **H.** Detail of prismatic crystals in the midrib. **Abbreviations.** C: prismatic crystals; La: laticifers; P: phloem; Pp: palisade parenchyma; Sc: sclereids; Sp: spongy parenchyma; T: malpighiaceae trichomes; X: xylem. * Scale bar: 650 µm.

a plano-convex shape. It is also surrounded by a sclerenchymatous mainly affected by the humidity and the extent of luminous intensity sheath. Laticifers are present around every vascular bundle. The rest of (Hlwatika & Bhat 2002, Rossatto & Kolb 2010; Schmidt *et al.* 2017; the structure is filled with parenchyma. Muniz *et al.* 2018). However, the number of layers is fixed for some species (Solereder 1908). Generally, for Sapotaceae, the palisade tissue consists of one or more cell layers, and it is present only on the adaxial side (dorsiventral mesophyll). In most Sapotaceae species, the spongy parenchyma has large intercellular spaces (Solereder 1908, Metcalfe & Chalk 1950, Monteiro 2007a, Almeida-Jr *et al.* 2012). Variations in the number of layers, a dorsiventral mesophyll, two discontinuous layers of palisade parenchyma, and a spongy parenchyma with large intercellular spaces were observed in *D. cuspidatum*.

Discussion

Some morphoanatomical characters described by previous authors (Solereder 1908, Metcalfe & Chalk 1950, Pennington 1990, Monteiro *et al.* 2007a, Almeida-Jr *et al.* 2012) as characteristic of the Sapotaceae family were corroborated by the taxonomic analysis in the present study. The literature shows that leaf venation patterns can provide a set of characters that are variable among different Sapotaceae genera, sections, and species. Pennington (1990) described leaf venation using characters of midrib and the petiole, and they are easily distinguished from other primary to quaternary veins and by analyzing shape, organization, course, epidermal and parenchymal elements. In Sapotaceae, laticifers are arranged in longitudinal rows and they have resinous substances that are sometimes accompanied by calcium oxalate crystal sand and starch (Solereder 1908). In the leaf blade, they are distributed predominantly in the midrib region, but are also found along the mesophyll and petiole (Solereder 1908, Metcalfe & Chalk 1950, Metcalfe & Chalk 1983, Monteiro *et al.* 2007a). In different genera of this family, the location of laticifers throughout these structures (leaf blade, mesophyll, and petiole) is variable, and they may occur along the vascular bundles of the veins or be immersed in the mesophyll (in *Chrysophyllum* L. and *Pouteria* Aubl.) or distributed in the cortical and medullary regions of the leaf blade (in *Manilkara* Adans.) (Solereder 1908, Metcalfe & Chalk 1950, Monteiro *et al.* 2007a, Almeida-Jr *et al.* 2012). This study emphasizes the marked presence of laticifers in the family, which can be found in different parts of the leaf blade depending on the genera and species.

The leaf vein system may vary in response to the environmental conditions of the different biomes. (Boeger *et al.* 2009, Sack & Scoffoni 2013). Despite this, the leaf venation pattern is an important character used for taxonomic distinction (Ellis *et al.* 2009, Borrero *et al.* 2016, Coutinho 2016). We highlight some conservative characters that can help in the identification of *D. cuspidatum* in the vegetative stage: both in the Atlantic forest biome and in the Amazon forest. These characters include the course of the midrib, the types of spaces between secondary veins, the angle between primary and secondary veins, and the pattern of intersecondary veins. Laticifers and malpighiaceus trichomes are notable anatomical characters, which together allow any member of the Sapotaceae family to be easily recognized, even in sterile stages (Solereder 1908, Metcalfe & Chalk 1950, Monteiro 2007b, Almeida-Jr *et al.* 2012). Additionally, along the midrib. Trichomes are unicellular malpighiaceus with long the U-shaped cuticle on the abaxial side (which resembles smooth arms and a short peduncle. In Sapotaceae, most species are covered by ondulations), hypostomatic leaves, anisocytic stomata, the predominance of a dorsiventral mesophyll, and the occurrence of sclerenchymatous elements and solitary or clustered crystals are also potentially diagnostic characters of Sapotaceae (Solereder 1908, Metcalfe & Chalk 1950, Monteiro 2007a, Almeida-Jr *et al.* 2012).

The shape and arrangement of the vascular system of the petiole and midrib have been deemed useful in plant systematics (Araújo *et al.* 2010, Leandro *et al.* 2015, Coutinho *et al.* 2016, Feio *et al.* 2018, Guesdon *et al.* 2018, Pereira *et al.* 2018). Metcalfe & Chalk (1950) described eight shapes for the petiole of Sapotaceae. Of these, *Diploon* is classified as “adaxially flattened closed cylinder” or flat-convex. The vascular bundle of the petiole is also flat-convex, occasionally displaying one or two accessory bundles. In the midrib, the contour and conformation of the vascular bundle is biconvex. For *Diploon*, as a monospecific genus, these characters are also taxonomically relevant. In other genera of Sapotaceae, the aforementioned characteristics were also present; however, the shape of the petiole, the midrib, and the conformation of the vascular bundles may vary among species, which was observed for *Manilkara* Adans. and *Pouteria* Aubl. (Monteiro *et al.* 2007a, Almeida-Jr *et al.* 2012).

The thickness and number of layers of the palisade parenchyma are usually related to the habitat of the individual species, and it is For Solereder (1908) and Metcalfe & Chalk (1950), the occurrence of large numbers of cells rich in solitary or clustered prismatic crystals is a good generic diagnostic characteristic for Sapotaceae, especially when combined with other characters. We observed the presence of large prismatic crystals dispersed in the midrib and petiole regions in *D. cuspidatum*, which were more frequent in the first subepidermal layers of the petiole. Crystal idioblasts present in the palisade parenchyma were important for the taxonomic delimitation of *Pouteria* Aubl. and *Pradosia* Liais (Solereder 1908, Monteiro *et al.* 2007a). The description of *D. cuspidatum* leaf architecture and anatomy has revealed a set of characters that have been reported for the Sapotaceae family and characters that aid in the identification of the species. In addition, the findings of the present study contribute to the morphoanatomic characterization of the *Diploon* and provide important information that can be used in taxonomic and phylogenetic studies.

For Solereder (1908) and Metcalfe & Chalk (1950), the occurrence of large numbers of cells rich in solitary or clustered prismatic crystals is a good generic diagnostic characteristic for Sapotaceae, especially when combined with other characters. We observed the presence of large prismatic crystals dispersed in the midrib and petiole regions in *D. cuspidatum*, which were more frequent in the first subepidermal layers of the petiole. Crystal idioblasts present in the palisade parenchyma were important for the taxonomic delimitation of *Pouteria* Aubl. and *Pradosia* Liais (Solereder 1908, Monteiro *et al.* 2007a).

The description of *D. cuspidatum* leaf architecture and anatomy has revealed a set of characters that have been reported for the Sapotaceae family and characters that aid in the identification of the species. In addition, the findings of the present study contribute to the morphoanatomic characterization of the *Diploon* and provide important information that can be used in taxonomic and phylogenetic studies.

usually related to the habitat of the individual species, and it is

Acknowledgements

We thank the Laboratório de Florística e Ecossistemas Costeiros (UFRPE) for providing the infrastructure necessary for this study and the Laboratório de Biologia Vegetal (UESPI) for the technical support in anatomical analyses. This study was supported by a research grant from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) and Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance code 001.

Author Contributions

Renata Gabriela Vila Nova de Lima: Substantial contribution in the concept and design of the study; Contribution to data collection; Contribution to data analysis and interpretation; Contribution to manuscript preparation; Contribution to critical revision, adding intellectual content.

Liliane Ferreira Lima: Substantial contribution in the concept and design of the study; Contribution to data collection; Contribution to data analysis and interpretation; Contribution to manuscript preparation; Contribution to critical revision, adding intellectual content.

Angélica Cândida Ferreira: Contribution to data analysis and interpretation; Contribution to manuscript preparation; Contribution to critical revision, adding intellectual content.

Josiane Silva Araújo: Contribution to data analysis and interpretation; Contribution to manuscript preparation; Contribution to critical revision, adding intellectual content.

Carmen Silvia Zickel: Contribution to manuscript preparation; Contribution to critical revision, adding intellectual content.

Conflicts of interest

The authors declare that they have no conflict of interest related to the publication of this manuscript.

References

- ALMEIDA-JR, E.B., ARAUJO, J.S., SANTOS-FILHO, F.S. & ZICKEL, C.S. 2012. Leaf morphology and anatomy of *Manilkara* Adans. (Sapotaceae) from Northeastern Brazil. *Plant Syst. Evol.* 299(1):1-9.
- ALVES-ARAÚJO, A. & ALVES, M. 2010. Flora da Usina São José, Igarassu, Pernambuco: Sapotaceae. *Rodriguésia* 61(2):303-318.
- ARAÚJO, J.S., AZEVEDO, A.A., SILVA, L.C. & MEIRA, R.M.S.A. 2010. Leaf anatomy as an additional taxonomy tool for 16 species of Malpighiaceae found in the Cerrado area (Brazil). *Plant Syst. Evol.* 286(1-2):117-131.
- BARRETO, E.H.P. & CATHARINO, E.L.M. 2015. Florestas maduras da região metropolitana de São Paulo: diversidade, composição arbórea e variação florística ao longo de um gradiente litoral-interior, Estado de São Paulo, Brasil. *Hoehnea* 42(3):445-469.
- BARROSO, G.M. 1978. Sistemática de angiospermas do Brasil: volume 1. Rio de Janeiro: Livros técnicos e científicos Editora, 255p.
- BOEGER, M.R.T., BIU, C. & GOLDENBERG, R. 2009. Arquitetura foliar comparativa de *Miconia sellowiana* (DC.) Naudin (Melastomataceae) em diferentes fitofisionomias no Estado do Paraná, Brasil. *Acta bot. bras.* 23(3):657-665.
- BORRERO, P.A.P., BOHREN, A.V., KELLER, H.A., GRANCE, L.A. & DUMMEL, C.J. 2016. La arquitectura foliar de las especies de Lauraceae Nativas de Misiones, Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 51(1):37-57.
- CARNEIRO CE, ALVES-ARAÚJO A, ALMEIDA-JR EB, TERRA-ARAÚJO MH. 2015. *Sapotaceae/Diploon*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil, 2015 Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000217> (último acesso em 09/04/2018).
- COUTINHO, I.A.C., RANDO, J.G., CONCEIÇÃO, A.S. & MEIRA, R.M.S.A. 2016. A study of the morphoanatomical characters of the leaves of *Chamaecrista* (L.) Moench sect. *Apoucouita* (Leguminosae- Caesalpinioideae). *Acta bot. bras.* 30(2): 205-221.
- CRONQUIST, A.J. 1946. Studies in the Sapotaceae-VI. Miscellaneous Notes. *Bulletin of the Torrey Botanical Club* 73(5):465-471.
- ELLIS, B., DALY, D.C., HICKEY, L.J., JOHNSON, K.R., MITCHELL, J.D., WILF, P. & WING, S.L. 2009. *Manual of leaf architecture*, first printing. Published in Association with The New York Botanical Garden.
- FEIO, A.C., MEIRA, R.M.S.A. & RIINA, R. 2018. Leaf anatomical features and their implications for the systematics of dragon's blood, *Croton* section *Cyclostigma* (Euphorbiaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 187:614-632.
- FELIPPI, M., GROSSI, F., NOGUEIRA, A.C. & KUNIYOSHI, Y.S. 2008. Fenologia e germinação de sementes de Aguai, *Chrysophyllum gonocarpum* (Mart. & Eichl.) Engl. *Floresta* 38(2):229-243.
- GOMES, R., PINHEIRO, M.C.B. & LIMA, H.A. 2008. Fenologia reprodutiva de quatro espécies de Sapotaceae na restinga de Maricá, RJ. *Revista Brasil. Bot.* 31(4):679-687.
- GOVAERTS, R., FRODIN, D.G. & PENNINGTON, T.D. 2001. World checklist and bibliography of Sapotaceae. *R. Bot. Gard. Kew, UK*.
- GUESDON, I.R., AMORIM, A.M. & MEIRA, R.M.S.A.. 2018. The hydrochorous Amazonian genus *Glandonia* (Malpighiaceae): new records, morphoanatomy updates and taxonomic contributions. *Phytotaxa* 345(1):013–025.
- HLWATIKA, C.N.M. & BHAT, R.B. 2002. An ecological interpretation of the difference in leaf anatomy and its plasticity in contrasting tree species in Orange Kloof, Table Mountain, South Africa. *Ann. Bot.* 89(1):109-114.
- HOWARD, R.A. 1979. The petiole. In: Metcalfe CR, Chalk L (eds) *Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of the leaf and stem*, Oxford Clarendon, Oxford, v.1, p.88–96.
- KAISER, E. 1880. *Verfahren zur herstellung einer tadellosen glycerin-gelatine*. Botanisch Zentralb, Stuttgart, v.180, p.25-26.
- KRAUS, J.E. & ARDUIN, M. 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal*. Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, v.1, 198p.
- KUKACHKA, B.F. 1979. Wood anatomy of the neotropical Sapotaceae. VIII, *Diploon*. Res. Pap. FPL-349. Madison, WI: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Forest Products Laboratory. 6p.
- KURTZ, B.C. & ARAÚJO, D.S.D. 2000. Composição florística e estrutura do componente arbóreo de um trecho de Mata Atlântica na Estação Ecológica Estadual do Paraíso, Cachoeiras de Macacu, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 51(78/79):69-111.
- LAWRENCE, G.H.M. 1951. *Taxonomia das plantas vasculares*. New York: Macmillan. 823p.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1950. *Anatomy of dicotyledons: leaves, stem, and wood in relation to taxonomy with notes on economic uses*. Oxford: Clarendon Press, v.2, p.871-880.
- METCALFE, C.R. & CHALK, L. 1983. *Anatomy of the Dicotyledons. Volume II: Wood Structure and Conclusion of the General Introduction*. Second edition. Oxford science publications.
- MONTEIRO, M.H.D.A., NEVES, L.J. & ANDREATA, R.H.P. 2007a. Taxonomia e anatomia das espécies de *Pouteria* Aublet (Sapotaceae) do estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Pesquisas, Botânica* 58:7-118.
- MONTEIRO, M.H.D.A., ANDREATA, R.H.P. & NEVES, L.J. 2007b. Estruturas secretoras em Sapotaceae. *Pesquisas, Botânica* 58:253-262.
- MUNIZ, L.F., BOMBOA, A.B., FILARTIGAA, A.L. & APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. 2018. Can climate and soil conditions change the morphoanatomy among individuals from different localities? A case study in *Aldama grandiflora* (Asteraceae). *Braz. J. Biol.* 78(4):706-717.

- PALAZZO, F.M.A., NETO, A.O.D., MONTEIRO, M.H.D.A. & ANDREATA, R.H.P. 2010. Sinopse comentada de Sapotaceae no município de Rio das Ostras (RJ, Brasil). Pesquisas, Botânica 61:293-306.
- PENNINGTON, T.D. 1990. Sapotaceae. In Flora Neotropica. The New York Botanical Garden, New York., v.52, 770p.
- PENNINGTON, T.D. 1991. The genera of Sapotaceae. R. Bot. Gard. Kew, UK. 295p.
- PEREIRA, L.B.S., COSTA-SILVA, R., FELIX, L.P. & AGRA, M.F. 2018. Leaf morphoanatomy of “mororó” (*Bauhinia* and *Schnella*, Fabaceae). Rev. bras. farmacogn. 28(4):383–392.
- REIS, L.P., SILVA, J.N.M., REIS, P.C.M., CARVALHO, J.O.P., QUEIROZ, W.T. & RUSCHEL, A.R. 2013. Efeito da exploração de impacto reduzido em algumas espécies de Sapotaceae no leste da Amazônia. Floresta 43(3):395-406.
- ROSSATTO, D.R. & KOLB, R.M. 2010. *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera (Asteraceae) changes in leaf structure due to differences in light and edaphic conditions. Acta Bot. Bras. 24(3):605-612.
- SACK, L. & SCOFFONI, C. 2013. Leaf venation: structure, function, development, evolution, ecology and applications in the past, present and future. New Phytol. 198(4):983-1000.
- SCHMIDT, D., CARON, B.O., PILAU, J., MAICON NARDINO, M. & ELLI, E.F. 2017. Morfoanatomia foliar de azevém no sub-bosque de espécies arbóreas em sistemas agroflorestais. Rev. Ceres, Viçosa 64(4):368-375.
- SMITH, F.H. & SMITH, E.C. 1942. Anatomy of the inferior ovary of Darbya. Am. J. Bot. 29(6):464–471.
- SOLEREDER, H. 1908. Systematic Anatomy of the Dicotyledons. Oxford: Clarendon Press. v.1. p.512-515.
- SWENSON, U. & ANDERBERG, A.A. 2005. Phylogeny, character evolution, and classification of Sapotaceae (Ericales). Cladistics 21(2):101-130.
- THEOBALD, W.L., KRAHULIK, J.L. & ROLLINS, R.C. 1979. Trichome description and classification. In: METCALFE, C.R., CHALK, L. (eds) Anatomy of the dicotyledons: systematic anatomy of the leaf, stem, 2nd ed. Oxford Clarendon, Oxford, 1:40–53.
- THE PLANT LIST, 2013. Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> (ultimo acesso em: 07/03/2018).

Received: 13/06/2018 Revised: 10/09/2018 Accepted: 17/09/2018 Published online: 29/10/2018