





# Estudos em *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae): Integrando morfologia e filogenia

 [Carlos Alexandre dos Santos Teixeira](#)<sup>1</sup>,  [Ana Carolina Devides Castello](#)<sup>2,5</sup>,  [Andreza Stephanie de Souza Pereira](#)<sup>3</sup> and  [Maria Ana Farinaccio](#)<sup>1,4,5</sup>

**Como citar:** Teixeira, C.A.S., Castello, A.C.D., Pereira, A.S.S. & Farinaccio, M.A. 2024. Estudos em *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae): Integrando morfologia e filogenia. Hoehnea 51: e812024. <http://dx.doi.org/10.1590/2236-8906e812023>

**ABSTRACT** – (Studies in *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae): Integrating morphology and phylogeny). One of the most important genera of Apocynaceae, *Aspidosperma* presents challenges in species delimitation due to overlapping morphological characters and the large number of synonyms. Thus, we seek to understand the most relevant morphological characters in the delimitation of two sections of the genus (*Aspidosperma* sect. *Aspidosperma* and A. sect. *Pungentia*), confronting hypotheses of primary homology with a molecular phylogenetic study. Character data were obtained from the literature of the genus and confronted in a phylogenetic tree to verify the presence of diagnostic characteristics for sections and species. Our results showed: (1) confirmation of diagnostic characteristics for both sections; (2) the possibility of segregating the typical section into three new sections based on morphological characteristics; (3) the distinction of species traditionally treated as synonyms; (4) the importance of using wood characteristics for the delimitation of genera with wide morphological variation, as is the case of *Aspidosperma*.

**Keywords:** Aspidospermateae, morphological characters, xylem

**RESUMO** – (Estudos em *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae): Integrando morfologia e filogenia). Um dos gêneros mais importantes de Apocynaceae, *Aspidosperma* apresenta desafios na delimitação de espécies devido à sobreposição de caracteres morfológicos e o grande número de sinônimas. Assim, buscamos entender os caracteres morfológicos mais relevantes na delimitação de duas seções do gênero (*Aspidosperma* sect. *Aspidosperma* e A. sect. *Pungentia*), confrontando hipóteses de homologia primária com estudo filogenético molecular. Os dados dos caracteres foram obtidos através da literatura do gênero e confrontados em uma árvore filogenética para verificar a presença de características diagnósticas para as seções e espécies. Nossos resultados evidenciaram: (1) a confirmação de características diagnósticas para as duas seções; (2) a possibilidade de segregar a seção típica em três novas seções, com base nas características morfológicas; (3) a distinção de espécies tradicionalmente tratadas como sinônimos; (4) a importância da utilização de características da madeira para a delimitação de gêneros com ampla variação morfológica, como é o caso de *Aspidosperma*.

**Palavras-chave:** Aspidospermateae, caracteres morfológicos, xilema

## Introdução

Apocynaceae Juss. inclui cerca de 400 gêneros e 5.350 espécies (Endress *et al.* 2018). Sua distribuição é predominantemente pantropical, sendo muito representativa nas regiões tropicais, principalmente no Hemisfério Sul e menos frequente em regiões temperadas (Endress *et al.* 2018). No Brasil ocorrem cerca de 96 gêneros e 978 espécies (Flora e Funga do Brasil 2023). Apocynaceae é conhecida por sua importância econômica na indústria madeireira, química e farmacológica e, na medicina popular, além do seu uso no paisagismo urbano (Rapini 2011, Farinaccio & Simões 2016, Simões *et al.* 2016, Souza & Lorenzi 2019, Machate *et al.* 2020).

A mais recente classificação para Apocynaceae é de Endress & Bruyns (2000) onde reconheceram cinco subfamílias: Asclepiadoideae R.Br. *ex* Burnett, Periplocoideae Endl., Secamonoideae Endl. (reconhecidas anteriormente como uma família distinta, Asclepiadaceae), Apocynoideae Burnett e Rauvolfioideae Kostel (Apocynaceae *s. str.*). Trabalhos mais recentes indicaram que as subfamílias Apocynoideae e Rauvolfioideae são parafiléticas, sendo tratados informalmente como grados apocinoide e rauvolfioide (Simões *et al.* 2016). Esse resultado foi corroborado por Fishbein *et al.* (2018), que confirmou que apenas o clado que inclui Asclepiadoideae, Periplocoideae e Secamonoideae é monofilético.

1. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Avenida Costa e Silva, s/n, Pioneiros, 79070-900 Campo Grande, MS, Brasil

2. Universidade do Estado de Minas Gerais, Rua Vereador Geraldo Moisés da Silva, s/n, Universitário, 38302-192 Ituiutaba, MG, Brasil

3. Universidade Federal do Oeste do Pará, Rua Vera Paz, s/n, Salé, 68040-255 Santarém, PA, Brasil

4. Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Avenida Rio Branco, 1270, Universitário, 79204-902 Corumbá, MS, Brasil

5. Autor para correspondência: maria.farinaccio@ufms.br

Dentre as Apocynaceae, *Aspidosperma* Mart. & Zucc. é um dos gêneros arbóreos mais representativos, distribuindo-se por toda a América tropical, desde o México até a Argentina, com exceção do Chile (Woodson 1951, Marcondes-Ferreira Neto 1988, Pereira *et al.* 2007, Castello *et al.* 2018). No Brasil, o gênero é amplamente difundido, estando presente em diversas formações vegetais, principalmente em ambientes florestais (Machate 2016, Machate *et al.* 2020, Castello *et al.* 2022). O Brasil é considerado o centro de diversidade de *Aspidosperma*, contemplando 69 espécies em seu território, das quais, 30 são endêmicas (Morales & Zamora 2017, Pereira *et al.* 2019, Castello *et al.* 2022).

Filogeneticamente, *Aspidosperma* pertence ao grado rauvolfioide, sendo o gênero mais representativo da tribo Aspidospermateae Miers, que compreende outros cinco gêneros (*Geissospermum* Allemão, *Haplophyton* A.DC., *Microplumeria* Baill., *Strepeliopsis* Benth. e *Vallesia* Ruiz & Pav.). *Aspidosperma* é o gênero com maior número de espécies dentro da tribo e, juntamente com o restante de Aspidospermateae, formam o clado que é grupo irmão das demais Apocynaceae (Endress *et al.* 2007, Simões *et al.* 2007, Fishbein 2018).

Atualmente, o gênero inclui 80 espécies e é dividido em *Aspidosperma* subg. *Aspidosperma* e *A.* subg. *Coutinia* (Vell.) Marc.-Ferr. (Marcondes-Ferreira & Kinoshita 1996). *Aspidosperma* subg. *Aspidosperma* é composto por nove seções: *A.* sect. *Aspidosperma*, *A.* sect. *Nobilia*, *A.* sect. *Polyneura* (Woodson) Marc.-Ferr., *A.* sect. *Excelsa* Marc.-Ferr., *A.* sect. *Pungentia* (Pichon) Marc.-Ferr., *A.* sect. *Inundata* Marc.-Ferr., *A.* sect. *Ramiflora* (Woodson) Marc.-Ferr., *A.* sect. *Rigida* (Woodson) Marc.-Ferr. e *A.* sect. *Schultesia* Marc.-Ferr. *Aspidosperma myristicifolium* (Markgr.) Woodson não foi incluída em nenhuma seção. *Aspidosperma* subg. *Coutinia* possui somente duas espécies: *Aspidosperma illustre* (Vell.) Kuhl. & Pirajá e *Aspidosperma megalocarpon* Müll.Arg. (Marcondes-Ferreira & Kinoshita 1996).

Da perspectiva econômica, *Aspidosperma* é conhecido pela grande quantidade de alcalóides indólicos presentes em diversas espécies e que são do interesse da indústria farmacêutica (Marcondes-Ferreira Neto 1988, Almeida *et al.* 2019, Oliveira *et al.* 2009, Torres *et al.* 2013). Além disso, o gênero é muito utilizado na indústria madeireira devido à resistência e dureza da madeira e também, para fins ornamentais (Woodson 1951, Schmutz 1960, Pereira *et al.* 2007, Machate *et al.* 2016, Lorenzi 2019, Souza & Lorenzi 2019, Machate *et al.* 2020).

Embora *Aspidosperma* tenha sido alvo de diversos estudos (*e.g.* Woodson 1951, Marcondes-Ferreira Neto 1988, Marcondes-Ferreira Neto & Kinoshita 1996), ainda existe grande dificuldade na delimitação de suas espécies devido à sobreposição de caracteres morfológicos, sinonímias e circunscrições não publicadas (Castello *et al.* 2018, Messias 2019). Dentre as espécies do gênero, aquelas incluídas na seção típica, (*A.* sect. *Aspidosperma*), *A.* sect. *Nobilia* e *A.* sect. *Pungentia*, estão entre as que apresentam mais variação morfológica e alteração de circunscrição entre os trabalhos com *Aspidosperma* (Castello *et al.* 2018, Pereira *et al.* 2019, Batista 2023).

Assim, *Aspidosperma* reverte-se em um ótimo modelo de estudo para confrontar hipóteses de homologia primária de caracteres morfológicos com uma filogenia molecular e, assim, proporcionar melhor entendimento da diversidade morfológica e suas implicações na taxonomia e reconhecimento de suas espécies.

## Material e métodos

Foram selecionadas nove espécies de *Aspidosperma*, de acordo com dados disponíveis na literatura (*e.g.* Woodson 1951, Marcondes-Ferreira Neto 1988, Marcondes-Ferreira Neto & Kinoshita 1996, Machate *et al.* 2016, Farinaccio *et al.* 2021). Dentre as espécies selecionadas, estão: as duas que compõem *A.* sect. *Pungentia*: *A. quebracho-blanco* Schldtl. e *A. triternatum* Rojas Acosta; e, sete incluídas em *A.* sect. *Aspidosperma*: *A. australe* Müll.Arg., *A. macrocarpon* Mart. & Zucc., *A. pyriforme* Mart. & Zucc., *A. quirandy* Hassl., *A. subincanum* Mart., *A. tomentosum* Mart. & Zucc. e *A. verbascifolium* Müll.Arg.

Os caracteres utilizados neste trabalho foram levantados com base na bibliografia específica para o gênero (*e.g.* Woodson 1951, Marcondes-Ferreira Neto 1988, Marcondes-Ferreira Neto & Kinoshita 1996, Machate *et al.* 2016, Farinaccio *et al.* 2021). Foram levantados 68 caracteres qualitativos, dos quais, 11 são da madeira.

O DNA total foi extraído de folhas secas em sílica gel usando protocolo CTAB (Doyle & Doyle 1987). A árvore filonegética foi construída utilizando quatro marcadores (*rpl16*, *trnS-G*, *ETS* e *ITS*) (tabela 1), que foram amplificados por meio reações em cadeia da polimerase (PCR) com volume final de 11,25 µL, contendo: 1,5 µL DNA total, 1 µL de cada primer, 1 µL Betaína, 1 µL de DMSO 5% ou 10% e 1 µL de Albumina do soro bovino (BSA) e 6,25 µL de Taq DNA polimerase Green Master®. As reações de PCR foram feitas utilizando os termocicladores TC-412 e TC-512 da Techne, e o MyCycler da Bio-Rad. As condições de PCR para cada marcador foram baseadas em outros trabalhos realizados em Apocynaceae (Simões *et al.* 2006; 2016) com temperatura de anelamento de 60, 3 °C para o ITS e ETS, 56 °C para o *rpl16* e 52 °C. Os produtos de PCR foram purificados com Polietilenoglicol (PEG 20%) por precipitação dos *primers* e dNTPs segundo protocolo de Dunn & Blattner (1987) ou usando o *mix* de enzimas ExoSAP-IT (USB, USA), conforme instruções do fabricante. O sequenciamento foi realizado pelo laboratório de Análise Genética e Molecular (CBMEG) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

O alinhamento múltiplo das sequências foi gerado pelo algoritmo MAFFT (versão 7.017; Katoh *et al.* 2013) com o algoritmo G-INS-i (Katoh *et al.* 2013). O alinhamento e edição foram realizadas no Geneious v.10.2.3. (Biomatters Ltd.). Os modelos de substituição de DNA para as análises de Inferência Bayesiana (IB) foram selecionados para cada marcador através do JModeltest (Darriba *et al.* 2012), utilizando a configuração padrão dos parâmetros. O melhor modelo evolutivo foi selecionado usando Critério de Informação Bayesiana (BIC).

Tabela 1. Listas dos marcadores moleculares e primers utilizados neste estudo.

Table 1. Lists of molecular markers and primers used in this study.

Região	Primer	Sequência (5'-3')	Referências
<i>rpl16</i>	71F	GCTATGCTTAGTGTGTGACTCGTTG	Jordan <i>et al.</i> , 1996
	1516R	CCCTTCATTCTTCCTCTATGTTG	Kelchner <i>et Clark</i> , 1997 Simões <i>et al.</i> , 2006
<i>trnS-G</i>	trnSF	GCCGCTTTAGTCCACTCAGC	Hamilton, 1999
	trnGR	GAACGAATCACACTTTTACCAC	
nrETS	ETS_2F	CAAATATCCTTGCTTTGTGCAACG	Pereira <i>et al.</i> , dados não publicados
	ETS_451R	GAGACAAGCATATGACTACTGGC	
nrITS	18S_25F	AAGTCGTAACAAGGTTTCCGT	Pereira <i>et al.</i> , dados não publicados
	26S_21R	TGCTTAAACTCAGCGGGTAGT	

As análises de Inferência Bayesiana (IB) foram realizadas com MrBayes v.3.1.2 (Ronquist *et al.* 2012). Foram realizadas duas corridas MCMC independentes, cada uma composta por quatro cadeias ligadas com 100 milhões de gerações, amostrando uma árvore a cada 2000 gerações, descartados os primeiros 25% das árvores como burn-in. Todas as análises foram realizadas na plataforma CIPRESS Science Gateway (<http://www.phylo.org/>, Miller *et al.* 2010).

A matriz de dados morfológicos foi elaborada em uma planilha do Excel contendo todas as espécies, caracteres e estados de caráter. Essas matrizes foram exportadas em formato CSV para serem utilizadas nas análises que foram conduzidas na plataforma R (R Core Team 2020). O mapeamento foi realizado na árvore filogenética por meio das funções do pacote phytools (Revell 2012). Utilizamos o modelo de evolução mais adequado para cada um dos caracteres analisados (ER - modelos de taxas iguais; SYM - modelo simétrico; e ARD - modelo com todas as taxas diferentes). A avaliação dos modelos foi realizada sob o critério de informação de Akaike corrigido (AICc), realizada com a função fitDiscrete do pacote Geiger (Harmon *et al.* 2008).

## Resultados

Dentre os 68 caracteres levantados, 23 foram descartados por serem polimórficos ou por apresentarem os mesmos estados de caráter entre todas as espécies estudadas. No total, foram utilizadas 45 características qualitativas para a realização das análises (tabela 2).

Obtivemos uma árvore filogenética com um clado formado pelas espécies de *Aspidosperma* sect. *Pungentia* e outro clado com as espécies de *A. sect. Aspidosperma*, com *Aspidosperma pyrifolium* emergindo como uma linhagem irmã das demais espécies. Dentro do clado que inclui as espécies da seção típica, emergiram dois subclados: um deles formado por *A. macrocarpon* e *A. verbascifolium*; o segundo formado por *A. australe*, *A. quirandy*, *A. subincanum* e *A. tomentosum*. Desse último subclado, *A. subincanum* emerge como uma linhagem irmã de um clado formado por *A. tomentosum* e *A. quirandy* (figura 1).

Do total de caracteres analisados, quatro são informativos na caracterização das duas seções estudadas (*A. sect. Aspidosperma* e *A. sect. Pungentia*), sendo eles: filotaxia, cor do látex, ápice pungente e distribuição do parênquima axial do xilema. Dentre os demais caracteres, tivemos aqueles que se destacaram na caracterização dos subclados e linhagens, tais como: características dos ramos (disposição dos râmulos e das lenticelas, presença e espessamento das fissuras), formato da folha, características da flor (*e.g.*, formato do lobo, indumento e formato da cabeça do estilete), além de características da madeira (distribuição de parênquima axial e agrupamento dos vasos do xilema, presença de parênquima marginal e presença de semianel poroso no parênquima marginal).

Como esperado, folhas verticiladas e ápice pungente foram recuperadas apenas para clado de *A. sect. Pungentia*. Além dessas, emergiram, o látex incolor, folhas estreitamente elípticas e ausência de parênquima marginal na madeira como características diagnósticas de *A. sect. Pungentia*. As demais espécies de *A. sect. Aspidosperma* apresentaram látex branco, folhas que variam entre ovada, obovada e amplamente elípticas e presença de parênquima marginal na madeira (a exceção desse último em *A. quirandy*) (figura 1). As espécies de *A. sect. Aspidosperma* também compartilham a presença de folhas alternas (figura 1). Vale destacar que a distribuição do parênquima axial no xilema também permite distinguir as duas seções estudadas, pois *A. sect. Aspidosperma* apresenta distribuição difusa, enquanto *A. sect. Pungentia* apresenta distribuição irregular.

*Aspidosperma pyrifolium* emergiu como irmã das demais espécies de *A. sect. Aspidosperma* e se destaca por apresentar diversas características exclusivas: (1) lobos da corola lanceolados em *A. pyrifolium* (figura 1), variando entre oval, oblongo e ovado nas demais espécies; (2) cabeça do estilete elíptica em *A. pyrifolium*, sendo oblonga ou globoso nas outras espécies da seção típica; (3) cabeça do estilete pubescente em *A. pyrifolium*, enquanto nas demais espécies, é glabro (figura 1); (4) sementes obovadas em *A. pyrifolium*, sendo elípticas ou circulares nas demais. Vale destacar que *A. pyrifolium* possui um semianel poroso na linha do parênquima marginal, característica compartilhada apenas com *A. verbascifolium* e ausente nas demais espécies.

Tabela 2. Matriz de caracteres qualitativos das espécies de *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae). A. Consistência do ritidoma. B. Lenticelas do ritidoma. C. Fissuras no ritidoma. D. Cristas do Ritidoma. E. Forma das cristas. F. Posição das cristas. G. Cor do látex. H. Disposição dos râmulos. I. Consistência dos râmulos. J. Lenticelas dos râmulos. K. Fissuras dos râmulos. L. Filotaxia. M. Presença de pecíolo. N. Forma da lâmina. O. Folha espinescente. P. Venação. Q. Tipo de inflorescência. R. Posição da inflorescência. S. Posição da fenda no tubo. T. Formas dos lobos da corola. U. Forma do ovário. V. Indumento do ovário. W. Forma da cabeça estilar. X. Indumento da cabeça estilar. Y. Cor dos folículos. Z. Forma dos folículos. A'. Costas medianas dos folículos. B'. Nervuras costais dos folículos. C'. Lenticelas dos folículos. D'. Muco dos folículos. E'. Cor das sementes. F'. Forma das sementes. G'. Forma do núcleo seminífero. H'. Posição do núcleo seminífero. I'. Distinção creme-alburno. J'. Cor da madeira. K'. Textura da madeira. L'. Brilho da madeira. M'. Porosidade do Xilema. N'. Agrupamento dos vasos. O'. Distribuição do parênquima axial. P'. Visibilidade dos anéis de crescimento. Q'. Presença de parênquima marginal. R'. Continuidade da linha de parênquima marginal. S'. Semianel poroso na linha de parênquima marginal.

Table 2. Matrix of qualitative characters of *Aspidosperma* Mart. & Zucc. (Apocynaceae) species. A. Consistency of the rhytidome. B. Rhytidome lenticels. C. Fissures in the rhytidome. D Rhytidome crests. E. Shape of the ridges. F. Position of ridges. G. Latex color. H. Arrangement of branches. I. Consistency of branches. J. Branch lenticels. K. Fissures of the branches. L. phyllotaxis. M. Presence of petiole. N. Blade shape. O. Spinescent leaf. P. Venation. Q. Type of inflorescence. R. Inflorescence position. S. Position of the slit in the tube. T. Shapes of the corolla lobes. U. Shape of the ovary. V. Indumentum of the ovary. W. Shape of the styler head. X. Indument of the styler head. Y. Color of the follicles. Z. Shape of the follicles. A'. Median sides of the follicles. B'. Costal veins of the follicles. C'. Follicle lenticels. D'. Muco of the follicles. E'. Seed color. F'. Seed shape. G'. Shape of the seminiferous nucleus. H'. Position of the seminiferous nucleus. I'. Heartwood-sapwood distinction. J'. Wood color. K'. Wood texture. L'. Wood Shine. M'. Xylem porosity. N. Vessel grouping. O'. Distribution of the axial parenchyma. P'. Visibility of growth rings. Q'. Presence of marginal parenchyma. R'. Continuity of the marginal parenchyma line. S'. Porous half-ring at the marginal parenchyma line.

Caráter	Estado	A.	A.	A.	A.	A.	A.	A.	A.	A.	A.	A.	A.	A.
		<i>australe</i>	<i>macrocarpon</i>	<i>pyrifolium</i>	<i>Quebracho-</i>	<i>quirandy</i>	<i>subincanum</i>	<i>tomentosum</i>	<i>triaternatum</i>	<i>verbascoifolium</i>				
		<i>blanco</i>												
A	0 suberous, 1 not suberous	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0
B	0 present, 1 absent	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
C	0 present, 1 absent	0 & 1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
D	0 present, 1 absent	1	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0
E	0 convex, 1 sharp, 2 flat, 3 absent	3	0	3	1 & 2	0	2	0	0	0	3	0	0	0 & 1
F	0 longitudinal, 1 transverse	?	0	?	1	0	1	0	?	0	?	?	?	?
G	0 white, 1 colorless	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0
H	0 alternate, 1 opposite	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
I	0 suberous, 1 not suberous	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
J	0 conspicuous, 1 inconspicuous	0	1	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1
K	0 present, 1 absent	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0

*continua*

Tabela 2 (continuação)

Caráter	Estado	A.	A.	A.	A.	A.	A.	A.	A.	A.	A.	A.	A.
		<i>australe</i>	<i>macrocarpon</i>	<i>pyrifolium</i>	<i>Quebracho-</i> <i>blanco</i>	<i>quirandy</i>	<i>subincanum</i>	<i>tomentosum</i>	<i>triternatum</i>	<i>verbascofolium</i>			
L	0 alternate, 1 whorled	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0
M	0 present, 1 absent	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0
N	0 broadly elliptical, 1 oboval, 2 oval, 3 narrowly elliptical	0	0 & 1	1	3	0	0	0	3	0	0	0	0 & 2
O	0 present, 1 absent	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	1	1
P	0 brochidodroma, 1 craspedodroma, 2 semi craspedodroma	0	1	0	1	2	0	1	1	1	1	1	1
Q	0 pleiocasio, 1 dicasio, 2 pleiotirso	0	1	1	1	2	1	2	1	1	1	0	0
R	0 terminal, 1 subterminal, 2 axillary	0 & 1	0 & 1	1	0 & 2	0	0	1	0 & 2	0	0	0 & 1	0 & 1
S	0 lower third, 1 upper third, 2 half	1	0	2	1	1	0	0	0	1	0	0	0
T	0 ovate, 1 oblong, 2 lanceolate	0	1	2	1	1	0	1	1	1	1	0 & 1	0 & 1
U	0 ovoid, 1 oblong	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
V	0 glabrous, 1 tomentose	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0
W	0 oblong, 1 globose, 2 elliptical	0 & 1	0	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0
X	0 glabrous, 1 pubescent	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Y	0 green, 1 gray, 2 brown, 3 yellow	0 & 2	1	2	1	1 & 2	2	2 & 3	2	2	2	1 & 2	1 & 2
Z	0 obovoid, 1 broadly obovoid, 2 flattened, 3 ellipsoid	1	0 & 2	0	3	0	0 & 2	0	3	0	0	0 & 2	0 & 2
A'	0 present, 1 absent	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
B'	0 present, 1 absent	1	1	?	1	1	?	0	0	0	0	1	1
C'	0 conspicuous, 1 inconspicuous	0	1	0	0	0	0	0 & 1	1	1	1	1	1

continua



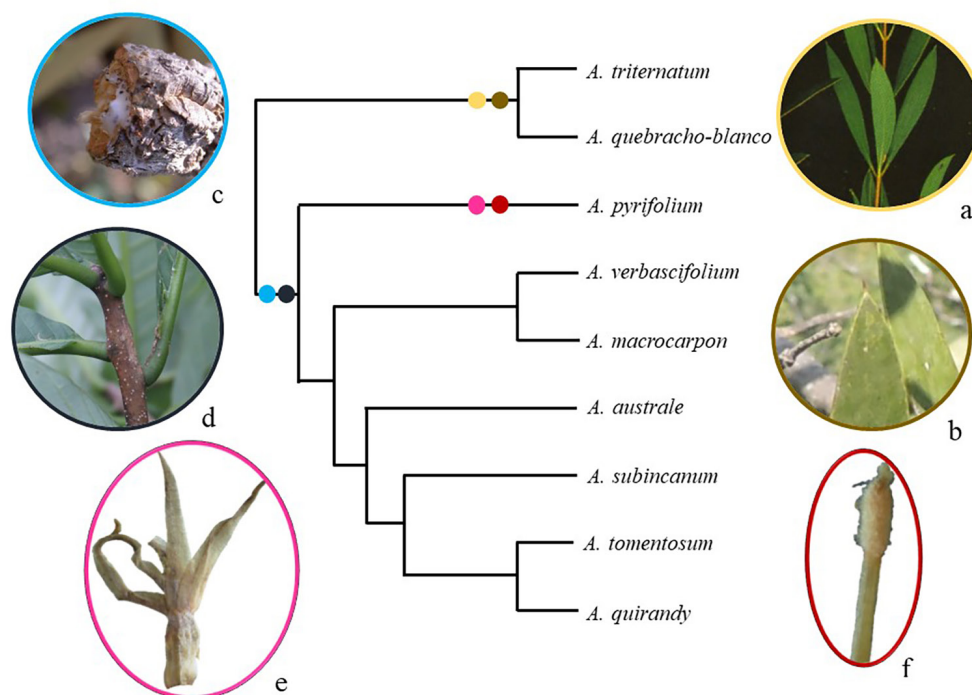


Figura 1. Otimização dos estados de caráter na árvore de consenso. a. Filotaxia verticilada. b. Ápice pungente. c. Látex branco. d. Filotaxia alterna. e. Forma do lobo da corola. f. Indumento da cabeça do estilar.

Figure 1. Optimization of character states in the consensus tree. a. whorled phyllotaxy. b. pungent apex. c. white latex. d. alternate phyllotaxy. e. corolla wolf shape. f. Indument of the style head.

*Aspidosperma macrocarpon* e *A. verbascifolium* formam um subclado na *A. sect. Aspidosperma* e compartilham o mesmo estado de caráter para 28 caracteres. Desses, o agrupamento dos vasos do xilema em grupos de duas a três células é uma característica exclusiva para esse clado. A presença de fissura nos ramos e posição do núcleo seminífero na semente emergem como características que permitem distinguir essas espécies; *A. macrocarpon* apresenta ramos fissurados e núcleo seminífero concêntrico enquanto, *A. verbascifolium* não possui fissuras nos ramos e o núcleo seminífero é excêntrico. Apenas *A. verbascifolium* apresentou semianel poroso na linha do parênquima marginal.

O mesmo foi observado no subclado que inclui *A. tomentosum* e *A. quirandy*; ambas compartilham o mesmo estado de caráter para 24 das características analisadas, dentre os quais, a inflorescência séssil aparece como característica diagnóstica. Além disso, é possível reconhecer essas duas espécies pelo espessamento e lenticelas nos ramos e pela distinção entre cerne e albúrnio. *Aspidosperma tomentosum* possui ramos espessados, com lenticelas inconspícuas, cerne e albúrnio indistinto, assim como nas demais espécies; já *A. quirandy* não apresenta espessamentos nos ramos, as lenticelas são conspícuas, possui distinção entre cerne e albúrnio.

No subclado formado por *A. australe*, *A. subincanum*, *A. tomentosum* e *A. quirandy*, apenas *A. subincanum* e *A. quirandy* apresentam brilho em seu lenho, provavelmente, em decorrência da orientação de seus elementos celulares. As demais espécies do subclado, assim

como as demais espécies analisadas compartilham o lenho opaco. Das espécies desse subclado, apenas *A. subincanum* têm vasos agrupados em até duas células e, *A. australe* é a única que possui anéis de crescimento com pouca distinção, característica compartilhada com as espécies de *A. sect. Pungentia*.

## Discussão

Os resultados obtidos neste trabalho divergem um pouco, quanto à composição da seção típica do gênero, como proposta por Marcondes-Ferreira & Kinoshita (1996). Nossos resultados demonstram que *A. pyriforme* é uma linhagem irmã das demais espécies de *A. sect. Aspidosperma* e que, *A. macrocarpon* e *A. verbascifolium* formam um subclado, em relação às demais espécies da seção. Somadas, as diversas características morfológicas, incluindo anatomia da madeira, podemos inferir que essas espécies podem ser transferidas para outras seções (ou novas) alterando a circunscrição desse táxon, ou seja, não serem mais consideradas na circunscrição da seção típica. Para tanto, sugerimos novos estudos para melhor compreender o posicionamento dessas espécies.

Marcondes-Ferreira Neto (1988) e Marcondes-Ferreira Neto & Kinoshita (1996) consideraram *A. macrocarpon* e *A. verbascifolium* como uma única espécie (*A. macrocarpon*), enquanto Woodson (1951), Machate *et al.* (2016) e Castello *et al.* (2022), as reconheceram, como espécies distintas, baseados principalmente na espessura do ramo, tamanho das folhas e distribuição dessas nos ramos.

Ressaltamos, que neste estudo foi possível incluir novos caracteres para o reconhecimento desses táxons como espécies distintas, podemos utilizar o formato e posição do núcleo seminífero da semente, característica dos ramos (presença ou ausência de fissuras) e presença de semianel no parênquima marginal, o que facilita o reconhecimento de *A. macrocarpon* e *A. verbascifolium*.

Marcondes-Ferreira (1988) considerou *A. subincanum* e *A. quirandy* como sinônimos de *A. tomentosum*. Marcondes-Ferreira & Kinoshita (1996) segregaram *A. subincanum*, no entanto, Machate (2016) e Castello *et al.* (2022) as consideraram como três espécies distintas. Esses autores utilizaram a ausência de pecíolo, os lobos da corola sinistrorsos e os folículos inflados, além da ocorrência restrita no estado do Mato Grosso do Sul para considerar *A. quirandy* como uma espécie distinta. Neste trabalho, recuperamos *A. subincanum* como uma linhagem irmã do subclado formado por *A. quirandy* e *A. tomentosum*. Verificamos que é possível distinguir *A. quirandy* de *A. tomentosum* por características do ramo e também da madeira, fornecendo subsídios adicionais para considerá-las distintas.

Nossos resultados representam uma primeira tentativa de confrontar características morfológicas com uma hipótese filogenética para espécies de *Aspidosperma*. Foi possível corroborar as características consideradas diagnósticas e bem conhecidas para o reconhecimento da *A. sect. Pungentia*, as folhas verticiladas com ápice pungente, porém, através deste estudo, verificamos que outras características contribuem para o seu reconhecimento, como látex incolor, folhas estreitamente elípticas e ausência de parênquima marginal. Verificamos, também, que as características do xilema nos permitiram caracterizar as duas seções estudadas: *A. sect. Aspidosperma* apresenta parênquima com distribuição difusa, enquanto em *A. sect. Pungentia*, é irregular; bem como corroborar a segregação de espécies da seção típica do gênero: *A. macrocarpon* e *A. verbascifolium*, já que são as únicas espécies estudadas que apresentam vasos do xilema com grupos de duas a três células. Além, disso, pudemos delimitar, mais facilmente, espécies morfológicamente próximas, por exemplo, *A. subincanum* foi a única espécie que apresenta vasos do xilema agrupados em até duas células; já *A. subincanum* e *A. quirandy* foram as únicas que apresentaram brilho em seu lenho, provavelmente em decorrência da orientação de seus elementos celulares e, dentro da circunscrição da seção típica, *A. australe* é a única que possui anéis de crescimento com pouca distinção.

Nossos resultados demonstraram a importância da utilização de caracteres morfológicos em conjunto com dados moleculares. Mais ainda, a importância de caracteres que não são tradicionalmente utilizados, como a morfologia da madeira que se mostrou muito informativa para a caracterização de clados e delimitação de espécies próximas. Destaca-se a importância deste estudo, que foi o primeiro formalmente publicado que buscou confrontar características morfológicas de espécies de *Aspidosperma* com uma filogenia proposta exclusivamente para esse gênero.

## Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Maria Ana Farinaccio agradece à Fundação de Apoio ao Desenvolvimento do Ensino, Ciência e Tecnologia do Estado de Mato Grosso do Sul/Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelos recursos concedidos: Edital 05/2013, Processo 23/200.614/2014 e Edital 29/2016, Processo 59/300.097/2017. Ana Carolina Devides Castello agradece a Universidade Estadual de Minas Gerais, pela concessão da Bolsa pelo Programa de Bolsas de Produtividade em Pesquisa, Edital 02/2022. Andreza Stephanie de Souza Pereira agradece a Fundação Amazônia de Amparo a Estudos e Pesquisas, pela Bolsa de Pós-Doutorado (2021/658124).

## Contribuições dos Autores

**Carlos Alexandre dos Santos Teixeira:** elaboração e desenvolvimento do estudo; análise e interpretação dos dados; elaboração do manuscrito.

**Ana Carolina Devides Castello:** desenvolvimento do estudo; análise e interpretação dos dados; elaboração e revisão do manuscrito.

**Andreza Stephanie de Souza Pereira:** obtenção dos dados moleculares e revisão do manuscrito.

**Maria Ana Farinaccio:** elaboração e desenvolvimento do estudo; análise e interpretação dos dados; revisão do manuscrito.

## Conflito de Interesses

Não há conflito de interesses.

## Literatura Citada

- Almeida, V. L., Silva, C.G., Silva, A.F., Campana, P.R.V., Foubert, K., Lopes, J.C.D. & Pieters, Luc.** 2019. *Aspidosperma* species: A review of their chemistry and biological activities, Journal of Ethnopharmacology.
- Batista, S.G.** 2023. Delimitação taxonômica das espécies de *Aspidosperma* sect. *Pungentia* (Pichon) Marc.ferr. com base em características morfológicas e anatômicas foliares. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande.
- Bouckaert, R., Heled, J., Kühnert, D., Vaughan, T., Wu, Chieh-His, Xie, D., Suchard, M. A., Rambaut, A. & Drummond, A. J.** 2014. Beast 2: A software platform for Bayesian Evolutionary Analysis. Plos Computational Biology, 10(4): 1003537.
- Castello, A.C.D., Pereira, A.S.S., Messias, P.A., Scudeler, A.L., Moura, Y.A. & Koch, I.** 2018. Two new species of *Aspidosperma* (Apocynaceae) from Northeast Brazil and a monograph of the species from Ceará State. Systematic Botany, 43(4): 1030-1045.
- Castello, A.C.D., Pereira, A.S.S., Shimizu, G.H., Zuntini, A.R., Simões, A.O. & Koch, I.** 2022. Taxonomy and nomenclature of *Aspidosperma* (Apocynaceae). Phylotaxa 571(3): 239-277.



- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R. & Posada, D.** 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9(8): 772-772.
- Doyle, J.J. & Doyle, J.L.** 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- Dunn, I.S. & Blattner, F.R.** 1987. Charons 36 to 40: multienzyme, high capacity, recombination deficient replacement vectors with polylinkers and polystuffers. *Nucleic Acids Research*, 15(6): 2677-2698.
- Endress, M.E. & Bruyns, P.V.** 2000. A revised classification of the Apocynaceae. *The Botanical Review* 66: 1-56.
- Endress, M.E., Liede-Schumann, S. & Meve, U.** 2007 "Advances in Apocynaceae: the enlightenment, an introduction", *Annals, of the Missouri Botanical Garden* 94(2): 259-267.
- Endress, M.E., Meve, U., Middleton, D.J. & Liede-Schumann, S.** 2018. The families and genera of vascular plants: Flowering plants. Eudicots. Apiales, Gentianales (except Rubiaceae), J. W. Kadereit and V. Brittrich [eds.], 15: 207-411. Springer International Publishing, Cham, Switzerland.
- Farinaccio, M.A., Urquiza, M.V.S., Machate, D.J., Braga, J.M.F., Araujo, C., Batista, S.G. & Arruda, R.C.O.** 2021. Wood of *Aspidosperma* Sections *Aspidosperma* and *Pungentia* (Apocynaceae) from Mato Grosso do Sul State, Brasil: Taxonomic Implications, *Systematic Botany* 46(1): 175-185.
- Farinaccio, M.A. & Simões, A.O.** 2016. Check-list das Apocynaceae do estado do Mato Grosso do Sul, Brasil. *Iheringia, Série Botânica* 73: 131-146.
- Fishbein, M., Livshultz, T., Straub, S.C.K., Simões, A.O., Boutte, J., McDonnell, A. & Foote, A.** 2018. Evolution on the backbone: Apocynaceae phylogenomics and new perspectives on growth forms, flowers and fruits. *American Journal of Botany* 105: 1-19.
- Flora e Funga do Brasil**, 2020. Apocynaceae. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB48>>. Acesso em: 16-XII-2023.
- Hamilton, M.B.** 1999. Four primer pairs for the amplification of chloroplast intergenic regions with intraspecific variation. *Molecular Ecology* 8(3): 513-525.
- Harmon, L.J.** 2008. GEIGER: investigating evolutionary radiations. *Bioinformatics*, 24: 129-131.
- Jordan, W.C., Courtney, M.W. & Neigel, J.E.** 1996. Low levels of intraspecific genetic variation at a rapidly evolving chloroplast DNA locus in North American duckweeds (Lemnaceae). *American Journal of Botany* 83(4): 430-439.
- Katoh, K. & Standley, D.M.** 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* 30(4): 772-780.
- Kelchner, A.S. & Clark, L.G.** 1997. Molecular evolution and phylogenetic utility of the chloroplast *rpl16* intron in *Chusquea* and the Bambusoideae (Poaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 8(3): 385-397.
- Machate, D.J., Alves, F.M. & Farinaccio, M.A.** 2016. *Aspidosperma* Mart. (Apocynaceae) no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rodriguésia* 67(4): 1011-1024.
- Machate, D.J., Pace, M.R., Alves, F.M., Queiroz, J.F.C. & Farinaccio, M.A.** 2020 *Aspidosperma flaviflorum* (Apocynaceae), uma nova espécie de Mato Grosso do Sul, Brasil, com notas sobre a anatomia da madeira. *American Society of Plant Taxonomists. Systematic Botany* 45(2): 315-322.
- Marcondes-Ferreira, W.** 1988. *Aspidosperma* Mart., nom. cons. (Apocynaceae): Estudos taxonômicos. Ph.D. thesis. Campinas: Universidade Estadual de Campinas.
- Marcondes-Ferreira Neto, W. & Kinoshita, L.S.** 1996. Uma nova divisão infragenérica para *Aspidosperma* Mart. (Apocynaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 19: 203-214.
- Messias, P.** 2019. Delimitação de espécies do complexo *Aspidosperma pyriforme* Mart. & Zucc. (Apocynaceae).
- Miller, M.A., Pfeiffer, W. & Schwartz, T.** 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees.
- Morales J.F. & Zamora, N.A.** 2017. A synopsis of *Aspidosperma* (Apocynaceae) in Mexico and Central America with a taxonomic clarification of *Aspidosperma cruentum* and a new cryptic species. *Phytoneuron* 68: 1-13.
- Oliveira, V.B., Freitas, M.S.M., Mathias, L., Braz-Filho, R. & Vieira, I.J.C.** 2009. Atividade biológica e alcalóides indólicos do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae): uma revisão. *Revista brasileira de plantas medicinais* 11(1): 92-99.
- Pereira, M.M., Jácome, R.L.R.P., Alcântara, A.F.C., Alvesm R.B. & Raslan, D.S.** 2007. Alcaloides indólicos isolados de espécies do gênero *Aspidosperma* (Apocynaceae). *Química Nova* 30(4): 970-983.
- Pereira, A.S.S., Castello, A.C.D., Silva, E.F., Guimarães, J.T.F., Simões, A.O. & Koch, I.** 2019. *Aspidosperma huberianum* (Apocynaceae), a New Species from the Brazilian Amazon. *Systematic Botany* 44(2): 363-370.
- R Core Team.** 2020. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical.
- Rapini, A., Pereira, J.F. & Goyder, D.J.** 2011. Towards a stable generic circumscription in Oxypetalinae (Apocynaceae). *Phylotaxa* 26: 9-16.
- Revel, L.J.** 2012. Phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution*, 3: 217-223.
- Ronquist, F., Teslenko, M., van der Mark, P. Ayres, D.L., Darling, A. Höhna, S., Larget, B., Liuz, L., Suchard, M.A. & Huelsenbeck, J.P.** 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61(3): 539-542.
- Schmutz, J. & Wittwer, H.** 1960. Die Synthese von Olivacin, Dihydro-olivacina, Tetrahydro-olivacina N-Metil-tetrahydro-olivacina, und Die Konstitution von u- Alcaloide D. *Aspidosperma*- Alcaloide, 7. Mitteilung. *Helvetica*, 43(3): 793-799.

- Simões, A.O., Endress, M.E., van der Niet, T., Kinoshita, L.S. & Conti, E.** 2006. Is *Mandevilla* (Apocynaceae, Mesechiteae) monophyletic? Evidence from five plastid DNA loci and morphology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 93(4): 565-591.
- Simões, A.O., Livshultz, T., Conti, E. & Endress, M.E.** 2007. Phylogewny and systematics of the Rauvolfioideae (Apocynaceae) based on molecular and morphological evidence. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 94(2): 268- 297.
- Simões, A.O., Kinoshita, L.S., Koch, I., Silva, M.J. & Endress, M.E.** 2016. Systematics and Evolution of *Viceae* characters (Apocynaceae, Rauvolfioideae). *Táxon* 65(1): 99-122.
- Souza, V.C. & Lorenzi H.** 2019. *Botânica Sistemática: Guia ilustrativo para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG IV.* Jardim Botânico Plantarum. 4 ed. Nova Odessa, SP.
- Torres, Z.E.S., Silveira, E.R., Silva, L.F.R., Lima, E.S., Vasconcellos, M.C., Uchoa, D.E.A., Braz-Filho, R. & Pohlit, A.M.** 2013. Chemical Composition of *Aspidosperma ulei* Markgr. and Antiplasmodial Activity of Selected Indole Alkaloids. *Molecules* 18(6): 6281-6297.
- Woodson, R.E.** 1951. Studies in the Apocynaceae VIII. A Interim Revision of Genus *Aspidosperma* Mart. & Zucc. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 38(2): 119-206.

**Editor Associada:** Renata Sebastiani

**Recebido:** 14/09/2023

**Aceito:** 22/12/2023

