UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Jasmim de Campos Vasques

Investigação taxonômica de *Oxalis alstonii* Lourteig (*O.* sect. *Polymorphae*, Oxalidaceae) sob uma abordagem integrativa

Florianópolis
2026

Jasmim de Campos Vasques

Investigação taxonômica de *Oxalis alstonii* Lourteig (*O*. sect. *Polymorphae*, Oxalidaceae) sob uma abordagem integrativa

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Ciências Biológicas do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito parcial para a obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas
Orientador: Prof. Pedro Fiaschi, Dr.
Coorientadora: Profª Duane Fernandes Lima, Dra.

Florianópolis
2026

Vasques, Jasmim de Campos
Investigação taxonômica de Oxalis alstonii Lourteig (O. sect. Polymorphae, Oxalidaceae) sob uma abordagem integrativa / Jasmim de Campos Vasques ; orientador, Pedro Fiaschi, coorientador, Duane Fernandes Lima, 2026.
76 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis, 2026.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Taxonomia integrativa. 3. Delimitação. 4. Citogenética. 5. Oxalis. I. Fiaschi, Pedro. II. Lima, Duane Fernandes. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

Jasmim de Campos Vasques

Investigação taxonômica de *Oxalis alstonii* Lourteig (*O.* sect. *Polymorphae*, Oxalidaceae) sob uma abordagem integrativa

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Licenciada e aprovado em sua forma final pelo Curso de Ciências Biológicas.

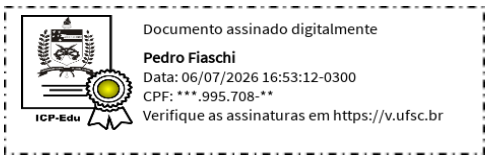
Florianópolis, 29 de junho de 2026.



Profª. Daniela Cristina de Toni, Dra.

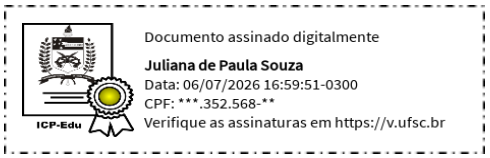
Coordenadora do Curso

Banca examinadora



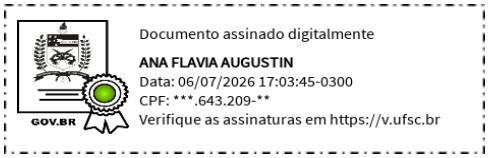
Prof. Pedro Fiaschi, Dr.

Orientador



Profª. Juliana de Paula-Souza, Dra.

Universidade Federal de Santa Catarina



Ana Flávia Augustin, Dra.

Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2026.

Às saudosas plantas da minha infância
que nunca me deixaram só

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço ao meu querido orientador, Pedro Fiaschi, que me acolheu em seu grupo de pesquisa ainda na primeira fase da graduação, quando eu era uma pequena semente procurando um punhadinho de terra para enraizar e crescer. Pedro me proporcionou a realização de grandes sonhos, confiou em mim e me apoiou. Obrigada por tanto!

Em segundo lugar, agradeço aos queridos colegas do Lab de Sistemática Vegetal. Vocês, além de amigos, são como família para mim. Devo ter passado mais tempo no Lab do que em casa nos últimos quase cinco anos e vocês tornaram esse ambiente o mais aconchegante que poderia ser. Vocês me deram colo para desabafar e chorar; e cafés, doces e pérolas para me alegrar. Eu amo e admiro a nossa parceria e como sempre estamos torcendo um pelo outro.

Fernando Cabral, obrigada por ter me ensinado tanta coisa, desde à primeira reunião de *Oxalis* em 2021, quando eu não sabia nada sobre nada e você me contou tudo sobre o mundo dos trevos com a maior paciência do mundo. Gabi Rhoden, você me inspira como ser humano e como pesquisadora. Sou muito grata por tudo o que vivemos juntas nessa jornada trevosa. Leo Gaspar, seu senso de humor torna os meus dias mais especiais e me lembra de que a vida não deve ser levada tão a sério. Adela Panizza, as picadas latino-americanas e seu sorriso me deram forças para aguentar dias difíceis. Lara Emerich, obrigada pelos abraços carinhosos e toda a nossa amizade dentro e fora do lab. Edu Nery, agradeço pelas risadas e pela sinceridade. Sara Cândido, agradeço pela doçura e parceria nos trabalhos! Ao Gustavo Goulart, agradeço por tantas risadas e pelos dias que passamos juntos viajando por esse Brasil. Acho que conheci os lugares mais legais com você! Também agradeço à Pamela Giuffre e à Gabi Goebel, pelas parcerias em campo e nos rolês. À Ana Flávia, Okesanna Puhale, Taise Gonçalves, Matheus Nascimento, Duvier Atuesta por toda parceria e ensinamentos valiosos, de vida (acadêmica ou não). Marina Vendramini e Brenda Emerick, sua presença no lab é efêmera, mas é boa como o cheiro da chuva. Não posso deixar de agradecê-las. Também agradeço à Mayara K. Caddah, por todo o apoio, ensinamentos e oportunidades! E a minha querida coorientadora Duane F. Lima, pelos ensinamentos moleculares e de vida.

Agradeço a todas as pessoas que conheci nessas viagens científicas, em especial ao pessoal de Recife: Gustavinho, Jéssica Nascimento e João Pedro, pela calorosa recepção na cidade. Também agradeço à Andressa Carnevalli, que conheci na USP e que me ensinou tanto sobre mim, sobre a vida e me acompanhou, com paciência, carinho e amor, nessa jornada do TCC.

Preciso agradecer à minha amiga Fernanda Peverari, com quem dividi as maiores alegrias e desalegrias da graduação. Desde o primeiro semestre, nunca largamos a mão uma da outra, fosse no atraso para as aulas, nos rolês aleatórios de quinta-feira ou nas sessões de estudo guiadas por um bolo ou outros doces. Sou muito grata por tudo e celebro cada conquista tua. Já sinto saudades!

Também celebro e agradeço as amizades que a UFSC me proporcionou, em especial à Majo, Sophia, Raissa, Lui, Maria Clara, Conrado e Bê. E também às amizades pré-UFSC que nunca me abandonaram: Braima Duarte, Ester Pavan, Calvin Menezes e Bruno Block Valente e Pedro Alux. Ter vocês na vida é como ter um lar ambulante, sempre pronto para acolher, escutar e dizer sábias palavras.

Claro, não posso deixar de agradecer à minha família, em especial aos meus avós, à minha mãe e ao meu pai. Obrigada por continuarem apoiando as minhas escolhas, mesmo que elas envolvam viajar pro meio do nada, estar em perigo e viver altas aventuras em nome da ciência! Amo vocês.

Agradeço à Ilha, ao Mar, ao Sol, à Areia, à Lua e aos Ventos por soprarem e modularem o meu humor e amor. À Música, por me permitir ser quem sou. Aos Trevos que brotam todos os anos pelo chão desta cidade e me ensinam resiliência. E a cada Garapuvu e Jerivá que avisto nos morros e que me lembram que viver é mais do que sonhar.

“nature need us to sing in her
like all the birds and insects do
in return to everything she gave us
including life”

autor desconhecido

RESUMO

A delimitação de espécies permanece um dos principais desafios da sistemática, especialmente em grupos com elevada variação morfológica e táxons infraespecíficos historicamente reconhecidos. Em *Oxalis* L., estudos recentes têm demonstrado que abordagens integrativas são fundamentais para revisar circunscrições taxonômicas tradicionalmente baseadas apenas em morfologia. *Oxalis alstonii* Lourteig, pertencente à *O.* sect. *Polymorphae* (Progel) Lourteig, é atualmente composta por duas subespécies, *O. alstonii* subsp. *alstonii* Lourteig e *O. alstonii* subsp. *lutzii* Lourteig, além de estar associada ao cultivar ornamental "fire fern", também conhecido como "avenca-roxa". Este trabalho teve como objetivo reavaliar a circunscrição taxonômica de *O. alstonii* sob uma abordagem integrativa, combinando evidências filogenéticas, de delimitação molecular, citogenéticas, morfológicas e de distribuição geográfica. Foram sequenciadas novas amostras para o marcador nuclear nrITS, e as relações filogenéticas foram reconstruídas com uma matriz concatenada composta por nrITS e pelos marcadores plastidiais *petA-psbJ* e *trnL-trnF*. Também foram realizadas análises de DNA barcoding, caracterização citogenética, comparação morfológica e mapeamento da distribuição geográfica dos táxons. As análises filogenéticas recuperaram *O. alstonii* subsp. *lutzii* como uma linhagem monofilética e distinta das amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii*, resultado corroborado pelas análises de delimitação molecular. Citogeneticamente, *O. alstonii* subsp. *lutzii* apresentou cariótipo unimodal composto exclusivamente por cromossomos acrocêntricos, contrastando com os cariótipos bimodais observados em *O. alstonii* subsp. *alstonii*. Morfologicamente, *O. alstonii* subsp. *lutzii* distingue-se principalmente pelos pedúnculos alados, ramos dicasiais fortemente reduzidos e padrão de indumento dos ramos jovens e folíolos. A congruência entre essas evidências sustenta a elevação de *O. alstonii* subsp. *lutzii* ao nível específico. Por outro lado, *O. alstonii* subsp. *alstonii* apresentou variação morfológica, molecular e citogenética, mas sem diagnóstico morfológico suficiente para novas alterações taxonômicas. O cultivar "fire fern" apresentou maior afinidade com *O. alstonii* subsp. *alstonii* e deve ser interpretado como uma forma ornamental associada a essa subespécie.

Palavras-chave: citogenética; DNA barcoding; delimitação de espécies.

ABSTRACT

Species delimitation remains one of the main challenges in systematics, especially in groups with high morphological variation and historically recognized infraspecific taxa. In *Oxalis* L., recent studies have shown that integrative approaches are essential for revising taxonomic circumscriptions traditionally based only on morphology. *Oxalis alstonii* Lourteig, belonging to *O.* sect. *Polymorphae* (Progel) Lourteig, is currently recognized with two subspecies, *O. alstonii* subsp. *alstonii* Lourteig and *O. alstonii* subsp. *lutzii* Lourteig, and is also associated with the ornamental cultivar "fire fern". This study aimed to reassess the taxonomic circumscription of *O. alstonii* under an integrative approach, combining phylogenetic, molecular delimitation, cytogenetic, morphological, and geographic distribution evidence. New samples were sequenced for the nuclear marker nrITS, and phylogenetic relationships were reconstructed using a concatenated matrix composed of nrITS, *petA-psbJ*, and *trnL-trnF*. DNA barcoding analyses, cytogenetic characterization, morphological comparisons, and geographic distribution mapping of the taxa were also performed. Phylogenetic analyses recovered *O. alstonii* subsp. *lutzii* as a monophyletic lineage distinct from the samples of *O. alstonii* subsp. *alstonii*, a result corroborated by molecular delimitation analyses. Cytogenetically, *O. alstonii* subsp. *lutzii* exhibited a unimodal karyotype composed exclusively of acrocentric chromosomes, contrasting with the bimodal karyotypes observed in *O. alstonii* subsp. *alstonii*. Morphologically, *O. alstonii* subsp. *lutzii is* mainly distinguished by winged peduncles, strongly reduced dichasial branches, and the indumentum pattern of young stems and leaflets. The congruence among these lines of evidence supports the elevation of *O. alstonii* subsp. *lutzii* to species rank. In contrast, *O. alstonii* subsp. *alstonii* showed morphological, molecular, and cytogenetic variation, but without sufficient morphological diagnosis to support further taxonomic changes. The cultivar "fire fern" showed greater affinity with *O. alstonii* subsp. *alstonii* and should be interpreted as an ornamental form associated with this subspecies.

Keywords: cytogenetics; DNA barcoding; species delimitation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Amostras de *O. alstonii* Lourteig 22
Figura 2 – Categorias de morfologia cromossômica segundo Guerra (1986) 35
Figura 3 – Filogenia molecular obtida por Máxima Verossimilhança 39
Figura 4 – Filogenia molecular obtida por Inferência Bayesiana 40
Figura 5 – Resultado das delimitações de DNA Barcoding 42
Figura 6 – Cromossomos metafásicos corados com DAPI 44
Figura 7 – Cariograma com sobreposição CMA/DAPI 45
Figura 8 – Morfologia dos folíolos de *O. alstonii* subsp. *alstonii* e "fire fern" 50
Figura 9 – Prancha de comparação morfológica entre *O. alstonii* subsp. *alstonii* e *O. alstonii* subsp. *lutzii* 51
Figura 10 – Mapa de distribuição de *O. alstonii* subsp. *alstonii* e *O. alstonii* subsp. *lutzii* 53
Figura 11 – Mapa de distribuição de *O. alstonii* subsp. *alstonii* e *O. alstonii* subsp. *lutzii* com sobreposição de ocorrência de cavernas no Brasil e tipos de rochas. 54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Expedições de coleta realizadas 25
Tabela 2 – Amostras sequenciadas 26
Tabela 3 – Componentes da reação de amplificação 27
Tabela 4 – Amostras utilizadas nas análises filogenéticas 29
Tabela 5 – Amostras utilizadas nas análises citogenéticas 34
Tabela 6 – Resultado das análises citogenéticas 47
Tabela 7 – Síntese comparativa de caracteres morfológicos 49

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO **16**
1.1 OBJETIVOS 23
1.1.1 Objetivo Geral **23**
1.1.2 Objetivos Específicos **23**
2 MATERIAIS E MÉTODOS **24**
2.1 CONCEITO E CRITÉRIOS DE ESPÉCIE ADOTADOS 24
2.2 EXPEDIÇÕES DE COLETA 25
2.3 EXTRAÇÃO DE DNA, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE NOVAS AMOSTRAS 25
2.4 FILOGENIA MOLECULAR 27
2.5 ANÁLISES DE DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES 32
2.6 ANÁLISES CITOGENÉTICAS 33
2.7 ANÁLISES MORFOLÓGICAS 36
2.8 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E HABITAT 36
3 RESULTADOS **37**
3.1 ANÁLISES FILOGENÉTICAS 37
3.2 ANÁLISES DE DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES 41
3.3 ANÁLISES CITOGENÉTICAS 42
3.4 ANÁLISES MORFOLÓGICAS 48
3.5 MAPA DE DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E HABITAT 52
4 DISCUSSÃO **56**
4.1 ANÁLISES FILOGENÉTICAS 56
4.2 DELIMITAÇÃO MOLECULAR DE ESPÉCIES 57
4.3 CITOGENÉTICA 58
4.4 MORFOLOGIA 61
4.5 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E HABITAT 62
4.6 SÍNTESE INTEGRATIVA E IMPLICAÇÕES TAXONÔMICAS 63
5 CONCLUSÃO **63**
6 TRATAMENTO TAXONÔMICO **65**
REFERÊNCIAS **68**
APÊNDICES **76**

1 INTRODUÇÃO

A sistemática é a área da ciência dedicada a investigar, descrever e interpretar a diversidade dos seres vivos sob uma perspectiva evolutiva, abrangendo o estudo das relações fenéticas, genéticas e filogenéticas entre os táxons (Radford, 1986). Nesse contexto, a taxonomia é responsável pela descrição e classificação da diversidade biológica (Rouhan & Gaudeul, 2014), enquanto a filogenia busca compreender as relações de parentesco evolutivo entre os organismos (Judd *et al*., 2009). Dessa forma, a sistemática exerce papel fundamental nas ciências biológicas ao propor, testar e revisar as unidades básicas utilizadas para interpretar a biodiversidade, isto é, as espécies (Braby *et al*., 2012).

Apesar da centralidade da espécie como unidade básica em estudos de biodiversidade, tanto o conceito de espécie quanto os critérios utilizados para reconhecer seus limites permanecem amplamente debatidos na sistemática moderna (De Queiroz, 1998, 2007; Sites & Marshall, 2004; Zachos, 2018). Diante da dificuldade de aplicar um único conceito de espécie a todos os grupos biológicos, uma tendência contemporânea tem sido deslocar o foco da discussão conceitual para a delimitação de espécies como um processo operacional, baseado na formulação e no teste de hipóteses (De Queiroz, 2007; Pante *et al*., 2015). Em 2007, De Queiroz propôs uma clara distinção entre a conceitualização e a delimitação de espécies, unificando o conceito de espécie como "uma linhagem de metapopulações em evolução independente" e tratando as evidências como critérios operacionais para corroborar as propostas de delimitação (De Queiroz, 2007). Assim, espécies podem ser compreendidas como hipóteses científicas sobre a estrutura da biodiversidade, passíveis de revisão à luz de novas evidências empíricas (Pante *et al*., 2015). Essa perspectiva é particularmente importante em grupos taxonomicamente complexos, nos quais diferentes processos evolutivos, como divergência recente, hibridização, variação morfológica contínua ou baixa diferenciação fenotípica entre linhagens, podem dificultar o reconhecimento dos limites entre espécies.

Historicamente, a delimitação de espécies baseou-se principalmente em caracteres morfológicos, agrupando organismos conforme suas similaridades e diferenças fenotípicas (Rouhan & Gaudeul, 2014; Haider, 2018). Paralelamente, ao longo do século XX, especialmente após a consolidação do conceito biológico de espécie proposto por Mayr

(1942), que traz “espécies como grupos de populações intercruzantes com identidades genéticas únicas que são reprodutivamente isoladas de outras populações”, intensificou-se a utilização de categorias taxonômicas infraespecíficas, como subespécies e variedades. Essas categorias foram majoritariamente utilizadas para acomodar populações morfologicamente diferenciadas dentro de uma mesma espécie, muitas vezes associadas à variação geográfica (Burt, 1954; Braby *et al*., 2012; Hillis, 2019).

Como consequência, diversos grupos de organismos passaram a reunir táxons infraespecíficos cuja validade biológica tem sido questionada (Zink, 2004; Padial & De La Riva, 2020). Isso ocorre porque diferenças morfológicas entre populações nem sempre refletem linhagens evolutivas independentes, podendo representar variações fenotípicas locais, respostas ambientais ou polimorfismos intraespecíficos (Padial & De La Riva, 2020). Por outro lado, linhagens evolutivamente distintas também podem apresentar baixa diferenciação morfológica, especialmente em processos recentes de especiação ou em casos de convergência morfológica (Olivares *et al*., 2025). Assim, a utilização exclusiva da morfologia pode resultar tanto na fragmentação artificial de espécies quanto na formação de complexos taxonômicos, nos quais a diversidade evolutiva real permanece mascarada sob um único nome (Caddah *et al*., 2012; Pessoa *et al*., 2012; Nery & Fiaschi, 2019; Nery *et al*., 2020).

Embora os estudos morfológicos permaneçam fundamentais para o reconhecimento físico das espécies e para sua identificação por métodos tradicionais, como chaves taxonômicas (Mayo, 2022), o desenvolvimento da biologia molecular revolucionou a sistemática ao possibilitar a reconstrução de hipóteses filogenéticas baseadas em sequências de DNA (Chase *et al*., 1993; Savolainen & Chase, 2003; Zuntini *et al*., 2024). A incorporação de dados moleculares permitiu compreender com maior precisão as relações evolutivas entre táxons e revelou que muitas entidades tradicionalmente reconhecidas como subespécies, variedades ou morfotipos correspondem, na realidade, a linhagens independentes (Morell *et al.*, 1995; Hirota *et al*., 2022; Thiele *et al.,* 2023).

Nesse contexto, métodos de DNA barcoding passaram a ser amplamente utilizados como ferramentas auxiliares na identificação e delimitação de espécies. Introduzido por Hebert *et al*. (2003), o DNA barcoding propõe a identificação de espécies por meio de sequências curtas de DNA, com base na expectativa de que a variação genética entre espécies

seja maior do que a variação observada entre indivíduos de uma mesma espécie (Chase & Fay, 2009). Em plantas, a aplicação desse método é especialmente útil quando caracteres morfológicos são insuficientes para diferenciar entidades próximas ou quando o material disponível está incompleto, dificultando a identificação taxonômica precisa (Cowan & Fay, 2012). Estudos utilizando essa abordagem têm evidenciado biodiversidade críptica em diferentes grupos de organismos (da Silva *et al*., 2023; Wu *et al*., 2023).

Apesar de amplamente utilizadas, hipóteses de delimitação baseadas em DNA barcoding devem ser interpretadas com cautela. Métodos baseados em um único marcador molecular são mais adequados para a proposição de hipóteses primárias de espécies, ou PSH (*Primary Species Hypotheses*), que devem ser posteriormente avaliadas com outras fontes de evidência antes de serem tratadas como hipóteses secundárias de espécies, ou SSH (*Secondary Species Hypotheses*), e formalmente reconhecidas pela taxonomia (Puillandre *et al*., 2012; Pante *et al*., 2015). Essa cautela é especialmente necessária em grupos de divergência recente, de modo que os dados moleculares são particularmente informativos quando avaliados em conjunto com outras evidências biológicas (Pante *et al.*, 2015).

Além das evidências moleculares, análises citogenéticas também têm se mostrado relevantes para auxiliar na delimitação de espécies vegetais. O cariótipo representa uma expressão fenotípica do genótipo e reflete processos evolutivos relacionados à variação no número, tamanho e morfologia dos cromossomos (Guerra, 2008; Carta *et al*., 2018; Araújo *et al*., 2024). Alterações cromossômicas, seja por poliploidia, disploidia ou rearranjos estruturais, desempenham papel importante na evolução das plantas (Levin, 2002; Mandáková & Lysak, 2018). Rearranjos envolvendo mudanças na posição do centrômero, no tamanho relativo dos cromossomos ou na organização estrutural do cariótipo podem influenciar a recombinação, contribuir para a divergência entre populações e, em alguns casos, atuar como barreiras reprodutivas (Guerra, 1988; Levin, 2002).

A variação cariotípica pode ser expressa tanto pela assimetria cromossômica quanto pela bimodalidade (Araújo *et al*., 2024). Cariótipos assimétricos são caracterizados pelo aumento da proporção de cromossomos acrocêntricos e pela maior heterogeneidade no tamanho cromossômico, enquanto cariótipos bimodais apresentam dois subconjuntos cromossômicos bem definidos, um formado por cromossomos maiores e outro por cromossomos menores (Avdulov, 1931; Araújo *et al*., 2024). Embora essas alterações sejam

menos frequentemente documentadas em nível intraespecífico, diferenças cariotípicas têm sido utilizadas com sucesso como evidências taxonômicas em diversos grupos vegetais (García, 2001; Catalán *et al*., 2012).

Dados de distribuição geográfica também fornecem informações importantes para estudos de delimitação específica, uma vez que padrões de disjunção, simpatria, parapatria ou segregação ecológica podem refletir processos históricos de separação entre linhagens evolutivas (Bacci *et al*., 2019; Brinegar, 2023). No entanto, assim como ocorre com dados morfológicos e moleculares, a distribuição geográfica isoladamente não é suficiente para definir limites taxonômicos. Espécies próximas podem ocorrer em simpatria sem apresentar divergência morfológica evidente, enquanto linhagens geograficamente separadas podem representar apenas variação populacional de uma única espécie. Por isso, padrões geográficos tornam-se mais informativos quando avaliados em conjunto com outras fontes de evidência.

Nesse contexto, consolidou-se a taxonomia integrativa, abordagem que combina múltiplas fontes de evidência, como morfologia, dados moleculares, citogenética, anatomia, biogeografia e ecologia, para inferir limites taxonômicos de forma mais robusta e consistente (Dayrat, 2005; Padial *et al*., 2010; Pessoa *et al*., 2020; Nery *et al*., 2020; Tineo *et al*., 2020; Mayo, 2022). A taxonomia integrativa não pressupõe que todas as linhas de evidência necessariamente produzam resultados idênticos, mas busca avaliar hipóteses alternativas de delimitação à luz de seu poder explicativo e de sua congruência geral com os processos evolutivos envolvidos (Pante *et al*., 2015). Dessa forma, revisões taxonômicas baseadas em múltiplas linhas de evidência tornam-se essenciais para o conhecimento da biodiversidade e para o estabelecimento de políticas conservacionistas mais eficientes (Mayo, 2022).

A delimitação adequada das espécies possui implicações diretas para a conservação da biodiversidade. Esforços conservacionistas podem ser inadequadamente direcionados quando focados em unidades taxonômicas que não representam linhagens evolutivas independentes (Zink, 2004; Padial & De La Riva, 2020). Além disso, apenas táxons corretamente delimitados, formalmente descritos e nomeados podem ser efetivamente considerados em estratégias de conservação e manejo ambiental (Mace, 2004). Portanto, reconhecer corretamente os limites entre espécies não é apenas uma questão nomenclatural, mas também uma etapa fundamental para compreender padrões de diversidade, evolução, distribuição e conservação.

Nesse cenário, o gênero *Oxalis* L. (Oxalidaceae) se apresenta como um grupo particularmente relevante. Trata-se do maior gênero da família, compreendendo aproximadamente 500 a 600 espécies distribuídas mundialmente, com centros de diversidade na África do Sul e nas Américas (Christenhusz *et al*., 2017). No Brasil, o gênero ocorre em todos os domínios, atualmente com 124 espécies, 20 subespécies e seis variedades descritas (Fiaschi *et al*., 2020).

O gênero é atualmente dividido em quatro subgêneros: *Oxalis* subg. *Monoxalis* (Small) Lourteig, *O.* subg. *Oxalis*, *O.* subg. *Thamnoxys* (Endl.) Reiche e *O.* subg. *Trifidus* Lourteig (Lourteig, 1994, 2000). Entre eles, *O.* subg. *Thamnoxys* destaca-se por incluir cerca de 90 espécies predominantemente distribuídas na região tropical das Américas, especialmente nos domínios do Cerrado e da Mata Atlântica brasileiros (Fiaschi *et al*., 2020). Esse subgênero é atualmente dividido em nove seções, conforme a classificação proposta por Lourteig (1994): *Foliosae* (Progel) Lourteig, *Hedysaroideae* DC. emend. Lourteig, *Holophyllum* Progel, *Phyllodoxys* Endl., *Pleiocarpa* Knuth, *Polymorphae* (Progel) Lourteig, *Psoraleoideae* Lourteig, *Robustae* (Progel) Lourteig e *Thamnoxys* (Endl.) Progel.

Além da diversidade morfológica e ecológica, *O.* subg. *Thamnoxys* apresenta grande diversidade cromossômica, incluindo variações em número cromossômico, tamanho dos cromossomos, fórmulas cariotípicas e conteúdo de DNA nuclear (de Azkue & Martínez, 1983, 1988; Vaio *et al*., 2018; Guerra *et al*., 2026). Estudos recentes demonstraram que essa diversidade cromossômica apresenta forte sinal filogenético dentro do grupo, sugerindo que mudanças cariotípicas desempenharam papel importante na evolução e diversificação das linhagens do subgênero (Vaio *et al*., 2013, 2018; Guerra *et al*., 2026). Assim, *O.* subg. *Thamnoxys* constitui um sistema promissor para avaliar a contribuição conjunta de caracteres morfológicos, moleculares e citogenéticos na delimitação de espécies.

Dentre as seções descritas para *O.* subg. *Thamnoxys*, *O.* sect. *Polymorphae* tem recebido atenção especial devido à sua elevada complexidade taxonômica. A seção agrupa espécies herbáceas e subarbustivas caracterizadas principalmente por folhas trifolioladas geralmente agrupadas no ápice dos ramos e cápsulas com carpelos unisseminados (Lourteig, 1994). Em Lourteig (1994), a seção contava com oito espécies e quatro subespécies. No entanto, estudos recentes têm demonstrado que sua circunscrição tradicional inclui espécies e táxons infraespecíficos que precisam ser reavaliados. Vaio *et al*. (2018), com base em

evidências filogenéticas e citogenéticas, demonstraram que *Oxalis rhombeo-ovata* A.St.-Hil. pertencia, na verdade, à seção *Psoraleoideae*. Richetti *et al*. (2022) elevaram *Oxalis neuwiedii* subsp. *pardoensis* Lourteig ao nível de espécie com base em evidências filogenéticas, anatômicas e morfológicas. De forma semelhante, Fiaschi *et al*. (2025), ao investigarem o complexo *Oxalis polymorpha* Zucc. sob uma abordagem integrativa, reconheceram seis espécies distintas anteriormente incluídas sob um único táxon, incluindo a elevação de *Oxalis polymorpha* subsp. *tijucana* Lourteig ao nível específico. Além disso, outras espécies foram descritas ou transferidas para esta seção nos últimos quinze anos (Fiaschi, 2012, 2014; Cabral *et al*., in press), de modo que *O.* sect. *Polymorphae* apresenta, atualmente, 21 espécies e somente duas subespécies aceitas, ambas pertencentes a *Oxalis alstonii* Lourteig: *O. alstonii* subsp. *alstonii* e *O. alstonii* subsp. *lutzii* Lourteig (Lourteig, 1978, 1994).

Nesse contexto, *O. alstonii* representa um caso particularmente interessante de complexidade taxonômica. A espécie foi descrita por Lourteig (1978) como pertencente à seção *Hedysaroideae*, a partir de materiais coletados nos estados da Bahia (BA), Goiás (GO) e Minas Gerais (MG). Na mesma publicação, a autora também reconheceu uma forma ornamental amplamente cultivada e presente em jardins botânicos, conhecida popularmente como “fire fern”, “red flame” ou “avenca-roxa”. Essa forma ornamental é caracterizada por folhas arroxeadas, flores amarelo-ouro e ausência de frutos, sendo mantida em cultivo por reprodução vegetativa (Lourteig, 1978). Posteriormente, durante a revisão taxonômica de *O.* subg. *Thamnoxys*, Lourteig (1994) transferiu *O. alstonii* para *O.* sect. *Polymorphae* e descreveu *O. alstonii* subsp. *lutzii*, diferenciando-a da subespécie típica principalmente pelos pedúnculos alados e ciliados e pelos ramos dicasiais congestos (Figura 1).

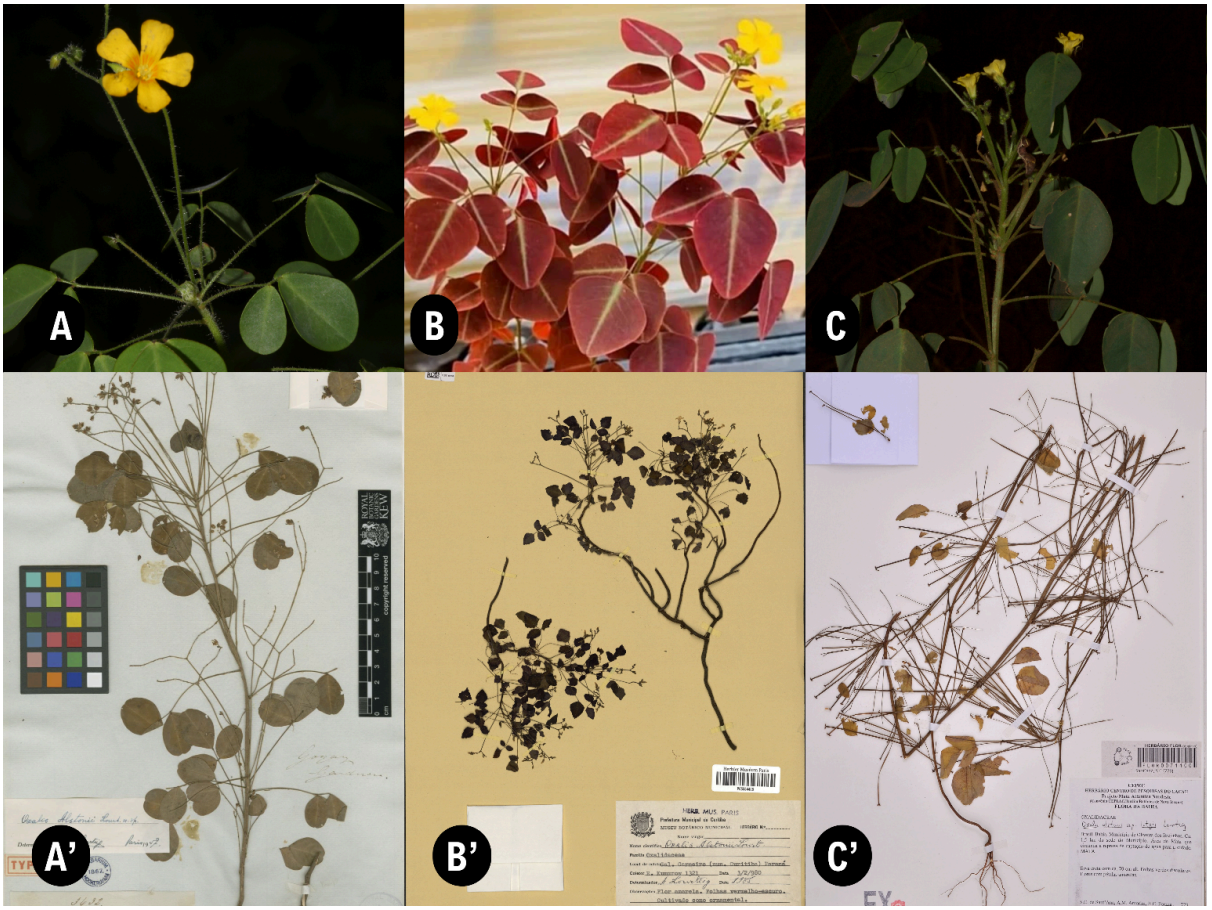


Figura 1. A: *O. alstonii* subsp. *alstonii* (*voucher* Cabral 217); A': *O. alstonii* subsp. *alstonii* (*voucher* Gardner 3632); B: *O. alstonii* "fire fern"; B': *O. alstonii* "fire fern" (*voucher* Kummrow 1321). C: *O. alstonii* subsp. *lutzii* (*voucher* Fiaschi 5589); C': *O. alstonii* subsp. *lutzii* (*voucher* Sant'ana 779). Exsicatas digitalizadas retiradas do *species*Link (2026).

Além da diversidade morfológica, estudos citogenéticos recentes revelaram elevada variabilidade cariotípica dentro de *O.* sect. *Polymorphae*. Guerra *et al*. (2026) demonstraram a existência de diferentes fórmulas cariotípicas entre espécies da seção e destacaram *O. alstonii* por apresentar citótipos distintos, que diferem quanto à fórmula cariotípica. Um dos citótipos foi associado à forma ornamental "fire fern", outro à subespécie típica e outro a uma amostra tratada como *O.* aff. *alstonii* (Guerra *et al*., 2026). No entanto, *O. alstonii* subsp. *lutzii* não foi amostrada. Esses resultados sugerem que *O. alstonii*, conforme atualmente circunscrita, pode representar um complexo taxonômico composto por múltiplas linhagens evolutivas ainda não reconhecidas formalmente.

Apesar das diferenças morfológicas entre *O. alstonii* subsp. *lutzii*, a subespécie típica e o morfotipo ornamental "fire fern", ainda não existem estudos que integrem evidências

morfológicas, moleculares, citogenéticas e geográficas para avaliar seus limites taxonômicos. Além disso, análises filogenéticas recentes incluíram apenas uma das duas subespécies em suas amostragens, impossibilitando comparações diretas entre seus posicionamentos evolutivos (Vaio *et al.*, 2018; Cabral *et al*., 2024; Fiaschi *et al*., 2025). Da mesma forma, embora Guerra *et al*. (2026) tenham demonstrado variabilidade na morfologia cromossômica de *O. alstonii*, com diferentes citótipos, *O. alstonii* subsp. *lutzii* não foi incluída em suas análises. Assim, permanecem em aberto questões centrais sobre a circunscrição de *O. alstonii* e sobre a validade taxonômica de seus táxons infraespecíficos.

Nesse contexto, este trabalho buscou reavaliar a delimitação da espécie sob uma abordagem integrativa, combinando análises filogenéticas, métodos de delimitação molecular baseados em DNA barcoding, dados citogenéticos, morfológicos e de distribuição geográfica. A partir dessas diferentes linhas de evidência, buscou-se investigar se a circunscrição atualmente aceita para *O. alstonii* corresponde a uma única espécie variável ou se reúne linhagens evolutivas independentes sob o mesmo nome. Considerando as diferenças morfológicas já reconhecidas entre as subespécies e a existência de diferentes citótipos registrados para a espécie, hipotetiza-se que *O. alstonii*, conforme atualmente delimitada, abrigue mais de uma linhagem evolutiva.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Reavaliar a circunscrição taxonômica de *Oxalis alstonii* sob uma abordagem integrativa, combinando evidências filogenéticas, de delimitação molecular, citogenéticas, morfológicas e de distribuição geográfica, a fim de investigar se a espécie, conforme atualmente delimitada, corresponde a uma única linhagem evolutiva ou se abriga entidades taxonômicas distintas.

1.1.2 Objetivos Específicos

A. Realizar expedições de coleta para obter novas amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii*, *O. alstonii* subsp. *lutzii* e a forma ornamental “fire fern”.

B. Sequenciar o marcador nuclear nrITS para amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii*, *O. alstonii* subsp. *lutzii* e a forma ornamental "fire fern" para utilizar nas amostras filogenéticas;
C. Reconstruir as relações filogenéticas entre as amostras de *O. alstonii*, a forma ornamental "fire fern" e espécies relacionadas;
D. Obter hipóteses primárias de espécie a partir de análises de delimitação por meio de métodos baseados em DNA barcoding;
E. Caracterizar e comparar os cariótipos das amostras analisadas de *O. alstonii* e da forma ornamental "fire fern";
F. Analisar e comparar a morfologia externa das amostras de *O. alstonii* e da forma ornamental "fire fern";
G. Levantar informações sobre habitat e fenologia das etiquetas dos materiais analisados;
H. Gerar mapa de distribuição geográfica dos táxons;
I. Avaliar se as unidades recuperadas nas análises representam hipóteses primárias de espécies e se, quando corroboradas por evidências independentes, podem ser reconhecidas como hipóteses secundárias de espécies passíveis de tratamento taxonômico formal.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 CONCEITO E CRITÉRIOS DE ESPÉCIE ADOTADOS

Para a realização deste estudo, adotou-se o conceito unificado de espécie proposto por De Queiroz (2007), no qual espécies são entendidas como linhagens metapopulacionais que evoluem separadamente. Nessa perspectiva, os diferentes critérios tradicionalmente empregados na delimitação específica, como monofilia, divergência molecular, distinção morfológica, diferenciação citogenética e distribuição geográfica, não são tratados como conceitos alternativos de espécie, mas como linhas de evidência que podem indicar, em diferentes momentos do processo de especiação, a independência evolutiva entre linhagens (De Queiroz, 2007; Pante *et al.*, 2015). Neste trabalho, as hipóteses primárias de espécie (*Primary Species Hypotheses* ou PSHs) foram propostas inicialmente com base nas análises de filogenia molecular e nos métodos de delimitação associados ao DNA barcoding.

Posteriormente, essas hipóteses foram confrontadas com evidências independentes, incluindo dados citogenéticos, morfológicos e de distribuição geográfica. Quando corroboradas por essas diferentes fontes de evidência, as PSHs foram interpretadas como hipóteses secundárias de espécie (*Secondary Species Hypotheses* ou SSHs), seguindo uma abordagem integrativa para a delimitação específica. Dessa forma, o reconhecimento das linhagens investigadas como espécies distintas foi baseado na congruência entre evidências moleculares e caracteres independentes, permitindo avaliar de maneira mais robusta sua separação evolutiva.

2.2 EXPEDIÇÕES DE COLETA

Foram realizadas expedições de coleta para obter amostras em sílica e mudas de *O. alstonii* ao longo de três anos, em cinco estados diferentes do Brasil. As coletas realizadas estão apresentadas na Tabela 1 a seguir.

Tabela 1. Expedições de coleta para obter amostras de *Oxalis alstonii*.

Data	**Estado**	**Localidade**	**Subespécies**	**Voucher**
Nov. 2023	ES	Baixo Guandu	*Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 47
Fev. 2024	RJ	Cardoso Moreira	*Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 82
Nov. 2024	GO	Cavalcante	*Oxalis alstonii* “fire fern”	J.C. Vasques 123
Jan. 2025	ES	Santa Teresa	*Oxalis alstonii* “fire fern”	J.C. Vasques 161
Fev. 2025	BA	Geolândia	*Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 175
Mar. 2025	MG	Serranópolis	*Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 299
				J.C. Vasques 308

Fonte: Autoria própria.

2.3 EXTRAÇÃO DE DNA, AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE NOVAS AMOSTRAS

A amostragem taxonômica para obtenção de novas sequências incluiu amostras de *Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*, *O. alstonii* subsp. *lutzii* e do cultivar ornamental “fire fern” preservadas em sílica. Essas amostras foram coletadas nos últimos anos por membros do

Laboratório de Sistemática Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Os vouchers das amostras sequenciadas neste trabalho estão listados na Tabela 2 e todos eles estão depositados no herbário FLOR.

Tabela 2. Subespécie, voucher, estado e localidade das amostras sequenciadas neste trabalho

Subespécies	Voucher	Estado	Localidade
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 175	Bahia	Geolândia
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 299	Minas Gerais	Serranópolis
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 308	Minas Gerais	Serranópolis
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	F.S. Cabral 217	Bahia	Miguel Calmon
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	F.S. Cabral 254	Minas Gerais	Serranópolis
Oxalis alstonii "fire fern"	J.C. Vasques 123	Goiás	Cavalcante
Oxalis alstonii "fire fern"	J.C. Vasques 161	Espírito Santo	Santa Teresa
Oxalis alstonii "fire fern"	F.S. Cabral 179	Paraná	Antonina
Oxalis alstonii subsp. *lutzii*	P. Fiaschi 5589	Bahia	Oliveira dos Brejinhos

Fonte: Autoria própria.

Os procedimentos foram realizados no Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB), do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). A extração de DNA genômico foi realizada pelo método CTAB (*cetyltrimethylammonium bromide*, brometo de cetiltrimetilamônio), adaptado de Doyle e Doyle (1991), com a adição de uma etapa extra de lavagem com álcool em relação ao protocolo original. Após a extração, o DNA genômico foi armazenado a −20 °C e posteriormente diluído dez vezes, utilizando-se 1 µL de DNA total e 9 µL de água ultrapura.

As amostras de DNA foram amplificadas por reação em cadeia da polimerase (PCR), em termociclador Thermo Fisher modelo 2720. O marcador molecular selecionado para amplificação foi o nrITS (*nuclear ribosomal Internal Transcribed Spacer*; Cheng *et al*., 2016), uma região nuclear amplamente utilizada e bem-sucedida em estudos moleculares com *Oxalis* (Gardner, 2013; Vaio *et al*., 2013, 2016, 2018; Cabral *et al*., 2024; Fiaschi *et al*., 2025; Vasques *et al*., 2025). Os iniciadores utilizados para a amplificação foram u1 e u4 (sequências em Cheng *et al*., 2016). Para cada amostra, as reações de amplificação foram preparadas em tubos de 200 µL, com volume final de 25 µL, conforme os componentes e volumes apresentados na Tabela 3. O programa de amplificação consistiu em desnaturação inicial a 95

°C por 5 min, seguida de 40 ciclos de desnaturação a 94 °C por 1 min, anelamento a 50 °C por 1 min e extensão a 72 °C por 2 min e 30 s, com extensão final a 72 °C por 5 min.

Tabela 3 – Componentes das reações de amplificação.

Componente	**Quantidade (μL)**
Master Mix Promega	12,5
Iniciador *forward*	1
Iniciador *reverse*	1
Água ultrapura Promega	5,5
Albumina de Soro Bovino (BSA)	2,0
Amostra de DNA	3

Fonte: Autoria própria.

Após a amplificação, os produtos de PCR, ou amplicons, foram visualizados por eletroforese em gel de agarose a 1%, a fim de confirmar o sucesso da amplificação. Em seguida, os amplicons foram purificados utilizando o protocolo de limpeza com polietilenoglicol (PEG) 20%. As amostras purificadas foram enviadas à empresa ACTGene Análises Moleculares (Alvorada, RS), onde foram sequenciadas pelo método de Sanger (Sanger et al., 1977), utilizando os mesmos iniciadores empregados na etapa de amplificação.

2.4 FILOGENIA MOLECULAR

2.4.1 Amostragem

Como já havia algumas sequências disponíveis de *O. alstonii* subsp. *alstonii*, *O. alstonii* subsp. *lutzii* e do cultivar ornamental “fire fern”, tanto no GenBank quanto em dados inéditos gerados por pesquisadores do grupo de pesquisa em *Oxalis* da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), optou-se pela realização de uma análise filogenética molecular com maior amostragem de terminais e marcadores. Para isso, foi utilizada uma matriz concatenada composta pelo marcador nuclear nrITS e pelas regiões plastidiais *trnL-trnF* (Taberlet et al., 1991) e *petA-psbJ* (Shaw et al., 2007). Esses marcadores foram selecionados por já terem sido empregados com sucesso em estudos filogenéticos de *Oxalis* e sequências estarem disponíveis (Vaio *et al*., 2013, 2016, 2018; Cabral *et al*., 2024; Fiaschi *et al*., 2025;

Vasques *et al*., 2025), permitindo observar um panorama mais amplo das relações de *O. alstonii* e táxons próximos.

A Tabela 4 apresenta as espécies, vouchers e respectivos acessos do GenBank para os três marcadores incorporados à análise. A matriz utilizada nas análises filogenéticas incluiu 47 terminais, dos quais um corresponde a *Averrhoa bilimbi* L. e dois a representantes de *O.* subg. *Oxalis*, utilizados como grupo externo. Os demais 44 terminais pertencem a *O.* subg. *Thamnoxys*, representando oito das nove seções atualmente reconhecidas para o subgênero. A maior parte da amostragem concentrou-se em *O.* sect. *Polymorphae*, com 31 terminais, incluindo 14 terminais associados a *O. alstonii*: sete de *O. alstonii* subsp. *alstonii*, três de *O. alstonii* subsp. *lutzii* e quatro do cultivar ornamental “fire fern”.

Tabela 4. Espécies, respectivas seções, vouchers e códigos das sequências amostradas para a filogenia molecular. "n.G." indica sequências geradas por outros pesquisadores mas ainda não disponíveis no Genbank. "**Nova**" indica sequências geradas neste trabalho. Espaços em branco indicam ausência de sequência. *Outgroup.

Seção	Táxons	Voucher	nrITS	petA-psbJ	trnL-trnF
	Averrhoa bilimbi L*	AVBIL	EU436862		AJ582291
Ionoxalis	*Oxalis nelsonii* R.Knuth*	A. Gardner 66	JN618559	JN836841	JN639580
Foliosae	*Oxalis caesariata* Lourteig	J. Radavelli 62	PP175925	PP179506	PP179510
Foliosae	*Oxalis macrochaeta* (Lourteig) J.Vasques & Rhoden	F.S. Cabral 96	OQ623651	OR099853	OR099877
Holophyllum	*Oxalis alvimii* Lourteig	P. Fiaschi 5497	OQ310870	OQ295991	OQ296017
Holophyllum	*Oxalis bela-vitoriae* Lourteig	P. Fiaschi 4606	OQ310871	OQ295992	OQ296018
Holophyllum	*Oxalis cornicarpa* Fiaschi	P. Fiaschi 5428	OQ310886	OQ296007	OQ296034
Pleiocarpa	*Oxalis glaucescens* Norlind	L.P. Felix 13539	KC602029	KC602053	KC602083
Polymorphae	*Oxalis* aff. *umbraticola* A.St.-Hil.	G. Rhoden 19	n.G.	PQ585598	PQ585614
Polymorphae	*Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*	F.S. Cabral 273	n.G.	n.G.	n.G.
Polymorphae	*Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*	P. Fiaschi 5363	n.G.	n.G.	n.G.
Polymorphae	*Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 299	**Nova**		
Polymorphae	*Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 308	**Nova**		
Polymorphae	*Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 175	**Nova**		

Polymorphae	*Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*	F.S. Cabral 217	**Nova**		
Polymorphae	*Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*	M. Vaio 413	MH705067	MH705088	EU437129
Polymorphae	*Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*	F.S. Cabral 254	**Nova**		
Polymorphae	*Oxalis alstonii* subsp. *lutzii*	Melo 4829	PQ536091	PQ585585	PQ585602
Polymorphae	*Oxalis alstonii* subsp. *lutzii*	P. Fiaschi 5596	n.G.	n.G.	n.G.
Polymorphae	*Oxalis alstonii* subsp. *lutzii*	P. Fiaschi 5589	**Nova**		
Polymorphae	*Oxalis alstonii* "fire fern"	P. Fiaschi 5180	OQ623644	OR099846	
Polymorphae	*Oxalis alstonii* "fire fern"	F.S. Cabral 179	**Nova**		
Polymorphae	*Oxalis alstonii* "fire fern"	J.C. Vasques 123	**Nova**		
Polymorphae	*Oxalis alstonii* "fire fern"	J.C. Vasques 161	**Nova**		
Polymorphae	*Oxalis amorimii* Fiaschi	P. Fiaschi 5457	PQ536092	PQ585589	PQ585606
Polymorphae	*Oxalis animarum* Fiaschi	F.S. Cabral 275	n.G.	n.G.	n.G.
Polymorphae	*Oxalis blackii* Lourteig	T.S. Costa 115	MH705068	MH705089	MH705073
Polymorphae	*Oxalis* cf. *polymorpha* Zucc.	P. Fiaschi 4618	PQ536094	PQ585594	PQ585611
Polymorphae	*Oxalis cipoensis* T.Costa, Sakur. & Fiaschi	T.S. Costa 110	PQ536096	PQ585587	PQ585604
Polymorphae	*Oxalis colatinensis* Fiaschi	P. Fiaschi 4625	MH705069	MH705090	MH705074
Polymorphae	*Oxalis decipiens* Progel	E. Richetti 64	PQ536097	PQ585588	PQ585605
Polymorphae	*Oxalis fruticosa* Raddi	P. Fiaschi 4658	OQ310877	OQ295998	OQ296024
Polymorphae	*Oxalis idimae* Fiaschi	E. Richetti 70	OQ623652	OR099854	OR099878

Polymorphae	*Oxalis kollmannii* Fiaschi	J.C. Vasques 53	PQ536100	PQ585591	PQ585608
Polymorphae	*Oxalis neuwiedii* Zucc.	EMA 1336	MH705072	MH705094	MH705078
Polymorphae	*Oxalis pardoensis* (Lourteig) T.Costa & Fiaschi	M.G. Caxambu 5990	OL998717	n.G.	n.G.
Polymorphae	*Oxalis puberula* Nees & Mart.	G. Rhoden 7	PQ536102	PQ585596	PQ585612
Polymorphae	*Oxalis roselata* A.St.-Hil.	G. Rhoden 16	PQ536104	PQ585586	PQ585603
Polymorphae	*Oxalis umbraticola* A.St.-Hil.	E. Richetti 69	PQ536105	PQ585600	PQ585616
Polymorphae	*Oxalis umbraticola* A.St.-Hil.	E. Nery 91		PQ585601	PQ585617
Psoraleoideae	*Oxalis erosa* R.Knuth	F.S. Cabral 138	OQ310876	OQ295997	OQ296023
Psoraleoideae	*Oxalis rhombeo-ovata* A.St.-Hil.	Melo 4750	PQ536103	PQ585597	PQ585613
Ripariae	*Oxalis sarmentosa* Zucc.*	A. Nuernberg 1849	OQ623654	OR099859	OR099882
Robustae	*Oxalis grisea* A.St.-Hil.	M. Vaio 512	KC602025	KC602050	KC602079
Thamnoxys	*Oxalis barrelieri* L.	M. Vaio 517	KC602027	KC602052	KC602081
Thamnoxys	*Oxalis pyrenea* Taub.	M. Sartor 65	PP175927	PP179509	PP179513
Thamnoxys	*Oxalis suborbiculata* Lourteig	F.S. Cabral 110	OQ623656	OR099861	OR099884

Fonte: Autoria própria.

2.4.2 Análises filogenéticas

As sequências foram alinhadas no MAFFT v.7 (Katoh & Standley, 2013), utilizando a estratégia G-INS-i para o nrITS e a opção automática para os marcadores plastidiais. Foram analisados três conjuntos de dados separadamente: nrITS, as regiões plastidiais combinadas e matriz concatenada dos três marcadores. As análises de Máxima Verossimilhança (ML) foram realizadas no RAxML v.8.2 (Stamatakis, 2014) sob o modelo GTRGAMMA, com suporte estimado por 100 réplicas de bootstrap. Os modelos de substituição nucleotídica mais adequados para cada partição foram selecionados no jModelTest2 (Darriba *et al*., 2012) com base no Critério de Informação de Akaike (AIC) e utilizados nas análises de Inferência Bayesiana (BI) realizadas no MrBayes v.3.2 (Ronquist *et al*., 2012). Foram executadas duas corridas independentes, cada uma composta por quatro cadeias de MCMC, durante 10 milhões de gerações, com amostragem a cada 1000 gerações e descarte dos primeiros 25% das árvores como *burn-in*. A convergência foi avaliada no Tracer v.1.7.2 (Rambaut *et al.*, 2018). As análises filogenéticas foram executadas por meio da plataforma CIPRES Science Gateway (Miller *et al*., 2010), e as árvores resultantes foram visualizadas no FigTree v.1.4.4.

2.5 ANÁLISES DE DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES

As análises de delimitação de espécies foram realizadas com o marcador nuclear nrITS, uma vez que abordagens de DNA barcoding geralmente empregam um único marcador ou região molecular para avaliar a separação entre unidades taxonômicas. Além disso, o nrITS foi priorizado por seu uso recorrente em estudos filogenéticos e taxonômicos de *Oxalis* (Vaio *et al*., 2013, 2016, 2018; Cabral *et al*., 2024; Fiaschi *et al*., 2025; Vasques *et al*., 2025), bem como por sua disponibilidade para as amostras analisadas neste estudo. Para essas análises, foi utilizado o alinhamento das sequências de nrITS como descrito acima e, no caso do método baseado em árvore, a topologia de Máxima Verossimilhança obtida exclusivamente a partir desse marcador.

Foram empregados dois métodos de delimitação molecular: ASAP (*Assemble Species by Automatic Partitioning*) (Puillandre *et al*., 2020) e PTP (*Poisson Tree Processes*) (Kapli *et al*., 2017). ASAP utiliza o alinhamento das sequências como entrada e propõe partições com

base nas distâncias genéticas entre pares de sequências. O PTP, por sua vez, utiliza uma árvore filogenética como entrada e infere limites entre espécies com base no comprimento dos ramos e no posicionamento dos terminais, assumindo que os padrões de ramificação intraespecíficos e interespecíficos podem ser modelados por processos distintos de Poisson.

A análise pelo método ASAP foi realizada na plataforma Spart Explorer, utilizando a ferramenta ASAP (https://spartexplorer.mnhn.fr/delimitation). A análise foi conduzida a partir do alinhamento de nrITS, sob o modelo de substituição Jukes-Cantor (JC69). Foram mantidos os parâmetros padrões da ferramenta, com exceção da probabilidade mínima para separação de grupos, definida como 0,01 (*Split groups below this probability* = 0,01), do valor de semente fixa, mantido como -1 (*Use fixed seed value* = -1), e do intervalo de distâncias genéticas destacado, definido entre 0,005 e 0,05 (*Highlight results between the genetic distances* = 0,005–0,05). As partições resultantes foram avaliadas de acordo com o ranqueamento fornecido pelo ASAP, sendo considerada como hipótese principal a partição com o menor índice ASAP.

A delimitação molecular também foi avaliada pelo método PTP, realizado na plataforma web PTP (https://species.h-its.org/ptp/). Como entrada, foi utilizada a árvore filogenética de Máxima Verossimilhança gerada no RAxML a partir do alinhamento de nrITS, sem os valores de suporte. Os terminais que não fazem parte do complexo investigado foram extraídos da árvore usando o pacote “ape” (*Analyses of Phylogenetics and Evolution*; Paradis & Schliep, 2019) em R. Apenas os terminais de *O. umbraticola* e *O. puberula* foram mantidos como grupo externo. Para a análise, a árvore foi informada como enraizada (*rooted*), e a corrida foi conduzida com 100.000 gerações de MCMC. Os parâmetros *thinning*, *burn-in* e *seed* foram mantidos nos valores padrão da ferramenta, correspondentes a 100, 0,1 e 123, respectivamente. Os terminais utilizados como grupo externo foram indicados no campo *outgroup taxa names*, e a opção *Remove outgroups* foi selecionada antes da submissão da análise.

2.6 ANÁLISES CITOGENÉTICAS

As análises citogenéticas foram realizadas durante um período de estágio no Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco

(UFPE), em Recife, realizado entre julho e agosto de 2025, sob a supervisão do Prof. Dr. Marcelo Guerra. Os espécimes amostrados para essas análises foram coletados em campo e mantidos em cultivo nos jardins experimentais da UFSC e da UFPE. A amostragem teve uma predominância de espécimes de *O. alstonii* subsp. *alstonii* (sete vouchers), enquanto que *O. alstonii* subsp. *lutzii* só teve um voucher amostrado devido à escassez de coleta e à dificuldade de manter espécimes dessa subespécie vivos após o campo. O cultivar ornamental também teve apenas um espécime amostrado nesta análise (Tabela 5).

Tabela 5. Amostras de *Oxalis alstonii* utilizadas nas análises citogenéticas.

Subespécies	**Voucher**	**Localidade**
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 299	Serranópolis, MG
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	P. Fiaschi 5363	Nova Roma, GO
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	P. Fiaschi 5352	São Domingos, GO
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 47	Baixo Guandu, ES
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 82	Cardoso Moreira, RJ
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	F.S. Cabral 217	Miguel Calmon, BA
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	F.S. Cabral 218	Jacobina, BA
Oxalis alstonii subsp. *lutzii*	J.C. Adrian 92	São Domingos, GO
Oxalis alstonii “fire fern”	M. Guerra s.n.	Recife, PE

Fonte: Autoria própria.

Os ápices radiculares contendo o meristema foram coletados de plantas mantidas em cultivo, com o auxílio de uma pinça, e pré-tratados com o antimitótico 8-hidroxiquinoleína 0,002 M por 8 h a 10 °C. Após esse período, as pontas de raízes foram retiradas do antimitótico e fixadas em etanol:ácido acético glacial (3:1, v/v) por 2–14 h, em agitação e temperatura ambiente, e posteriormente armazenados a −20 °C.

O material fixado foi lavado em água destilada, submetido à digestão enzimática em uma solução contendo 2% de celulase e 20% de pectinase por 1 h em uma estufa à 37 °C. Após isso, as células foram esmagadas em ácido acético a 45%. As lamínulas foram removidas após o congelamento das lâminas em nitrogênio líquido, e as preparações foram coradas com 8 μL de DAPI (4',6'-diamino-2-fenil-indol, 1 μg mL^{-1}) em glicerol (1:1, v/v) e analisadas sob microscopia de epifluorescência.

As melhores preparações foram selecionadas e postas para envelhecimento em uma caixa escura por três dias. Essas lâminas foram, então, coradas com CMA (cromomicina A_3, 0,1 mg mL^{-1}) e DAPI (1 μg mL^{-1}) e mantidas por mais três dias envelhecendo antes da análise. As imagens foram obtidas em um microscópio Leica DMLB equipado com câmera de vídeo Cohu CCD e editadas no Adobe Photoshop apenas para ajustes de brilho, contraste e nitidez. A ferramenta "régua" do Adobe Photoshop foi utilizada para medir os cromossomos e o seu tamanho real foi estimado utilizando a escala da foto obtida. A relação entre o braço longo (BL) e o braço curto (BC) foi calculada utilizando o Google Sheets e a morfologia cromossômica foi descrita de acordo com a razão entre o braço longo e o braço curto (BL/BC). Os cromossomos foram classificados como metacêntricos quando a relação BL/BC = 1.00–1.49, submetacêntricos quando BL/BC = 1.50–2.99, acrocêntricos quando BL/BC > 3.00 ou telocêntricos quando BL/BC = 0, seguindo a classificação proposta por Guerra (1986) e ilustrada na Figura 2 abaixo:

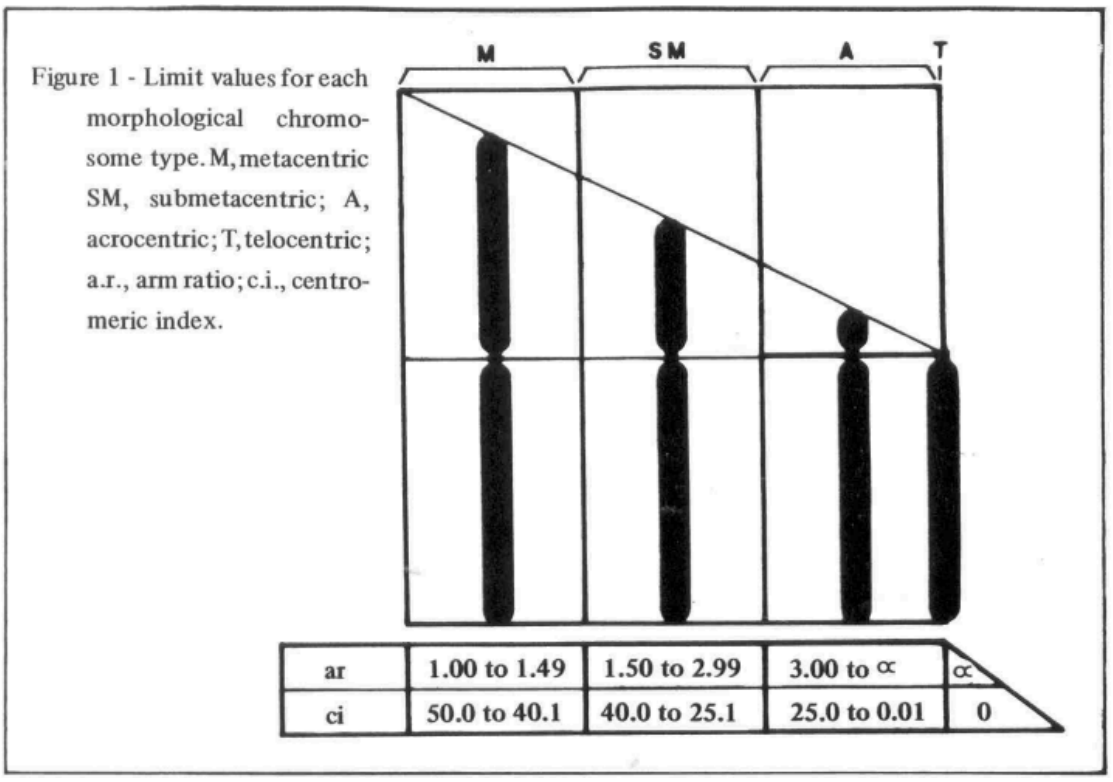


Figura 2. Morfologia cromossômica e os valores limite para cada tipo de morfologia. Retirado de Guerra (1986).

2.7 ANÁLISES MORFOLÓGICAS

Para as análises morfológicas, foram examinados espécimes depositados nos herbários visitados ALCB, CEPEC, CESJ, FLOR, MBML, MCCA, SPF e VIES, além de materiais obtidos por empréstimo dos herbários HUEFS, RB e UB (acrônimos segundo Thiers, continuamente atualizado). Além do material herborizado, foram analisadas flores e frutos coletados em campo e preservados em álcool. As análises foram realizadas com auxílio de microscópio estereoscópico (Olympus SZ2-ILST) e régua milimetrada.

As avaliações morfológicas comparativas foram baseadas na literatura, especialmente Lourteig (1994), e nos espécimes examinados dos herbários. A terminologia morfológica utilizada segue Beentje (2016) para morfologia geral, Radford *et al*. (1974) para formas planas e sólidas e Eiten (1963) para indumento.

2.8 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E HABITAT

O mapa de distribuição geográfica da espécie foi elaborado no QGIS v.3.30.1 (QGIS Development Team, 2023). As coordenadas geográficas foram obtidas a partir das etiquetas dos espécimes de herbário. Registros adicionais de ocorrência foram verificados nas plataformas speciesLink (https://specieslink.net/; Canhos *et al.*, 2022) e Reflora (https://reflora.jbrj.gov.br/). Entre os registros disponíveis online, foram considerados apenas espécimes digitalizados, a fim de minimizar o risco de identificações incorretas. As informações sobre habitat foram compiladas a partir das etiquetas dos espécimes examinados.

As expedições de coletas realizadas levantaram suspeitas de uma possível afinidade das subespécies de *O. alstonii* por substratos calcários. Para avaliar uma possível associação dos registros de ocorrência com diferentes tipos de substrato, os pontos foram sobrepostos à camada geoespacial “Área de Ocorrência de Cavernas no Brasil”, em formato shapefile, elaborada pelo Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas do Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (CECAV/ICMBio, 2018).

3 RESULTADOS

3.1 ANÁLISES FILOGENÉTICAS

As análises filogenéticas de Máxima Verossimilhança (ML) (Figura 3) e Inferência Bayesiana (BI) (Figura 4), realizadas com a matriz concatenada dos marcadores nrITS, *petA-psbJ* e *trnL-trnF*, recuperaram topologias majoritariamente congruentes, especialmente quanto ao posicionamento dos terminais de *O. alstonii* e espécies próximas. Em ambas as análises, *O. alstonii* subsp. *alstonii* não foi recuperada como monofilética, uma vez que seus terminais foram posicionados em dois grupos distintos. O primeiro clado, formado pelas amostras FSC217, JCV175 e FSC254 de *O. alstonii* subsp. *alstonii*, apresentou alto suporte nas duas análises (BS = 99; PP = 0.98) e foi recuperado como grupo irmão das amostras do cultivar ornamental "fire fern" (Bootstrap, ou BS = 100; Probabilidade Posterior, ou PP = 1). O segundo grupo incluiu os terminais JCV299, JCV308, FSC273 e PF5363, de *O. alstonii* subsp. *alstonii* junto com *O. animarum* e *O. pardoensis*, também com suporte máximo na ML e na BI (BS = 100; PP = 1). Entretanto, na BI, as relações internas desse segundo clado não foram completamente resolvidas, formando politomias.

As três amostras de *O. alstonii* subsp. *lutzii* incluídas nas análises foram recuperadas como monofiléticas, com suporte máximo em ambas as abordagens (BS = 100; PP = 1). Esse clado foi posicionado como grupo irmão do clado formado por *O. alstonii* subsp. *alstonii* FSC217, JCV175 e FSC254 e pelo cultivar "fire fern". No entanto, o suporte para essa relação diferiu entre as análises, sendo BS = 58 na ML e PP = 0.95 na BI. O clado formado pelas amostras do cultivar "fire fern" foi recuperado com suporte máximo (BS = 100; PP = 1), embora suas relações internas tenham ficado ambíguas na BI.

Os três terminais de *O. umbraticola* foram posicionados entre os dois agrupamentos de *O. alstonii* subsp. *alstonii* e não formaram um clado exclusivo entre si. Em ambas as análises, *O.* aff. *umbraticola* GR 19 foi recuperada como grupo irmão do clado formado por *O. alstonii* subsp. *lutzii*, *O. alstonii* subsp. *alstonii* FSC217, JCV175 e FSC254 e o cultivar "fire fern".

Na ML, por sua vez, o clado formado por *O. alstonii* subsp. *alstonii* JCV299, JCV308, FSC273 e PF5363, juntamente com *O. animarum* e *O. pardoensis*, foi recuperado como grupo irmão de um clado composto pelas demais representantes de *O.* sect. *Polymorphae*,

excluindo-se os terminais de *O. alstonii* subsp. *lutzii*, o cultivar "fire fern" e *O. umbraticola*, mas essa relação apresentou suporte baixo (BS = 33). O agrupamento formado por esses dois clados foi, por sua vez, recuperado como grupo irmão do clado que reúne *O. umbraticola*, *O. alstonii* subsp. *lutzii*, *O. alstonii* subsp. *alstonii* FSC217, JCV175 e FSC254 e o cultivar "fire fern" (BS = 82).

A relação entre as seções foi congruente nas duas análises. *O.* sect. *Polymorphae* foi recuperada como grupo irmão de *O.* sect. *Psoraleoideae* (BS = 51; PP = 0.82). Esse clado, por sua vez, foi recuperado como grupo irmão de *O.* sect. *Holophyllum* (BS = 100; PP = 1). As espécies representantes de *O.* sect. *Pleiocarpa* e *O.* sect. *Robustae* foram recuperadas como grupos irmãos, com suporte máximo (BS = 100; PP = 1), e esse agrupamento foi posicionado como grupo irmão do clado formado por *O.* sect. *Thamnoxys* e *O.* sect. *Foliosae* (BS = 93; PP = 1). A relação de grupo irmão entre *O.* sect. *Thamnoxys* e *O.* sect. *Foliosae* também foi recuperada com suporte máximo em ambas as análises.

Além das análises com a matriz concatenada, foram avaliadas separadamente as topologias obtidas a partir do marcador nuclear nrITS e da matriz plastidial combinada (*petA-psbJ* + *trnL-trnF*). Essas análises recuperaram topologias parcialmente incongruentes e são apresentadas como Apêndice A e Apêndice B. Na análise de ML baseada exclusivamente em nrITS, as amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii* foram recuperadas em um clado com alto suporte. Por outro lado, a matriz plastidial não recuperou *O.* sect. *Polymorphae* como monofilética devido à inclusão de *O. rhombeo-ovata*, e recuperou uma separação entre os terminais de *O. alstonii* subsp. *alstonii* em dois clados, porém com suportes baixos. Em ambas as matrizes, *O. alstonii* subsp. *lutzii* foi recuperada como um agrupamento distinto das amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii* e da "fire fern", embora o suporte e as relações de grupo irmão tenham variado entre os conjuntos de dados.

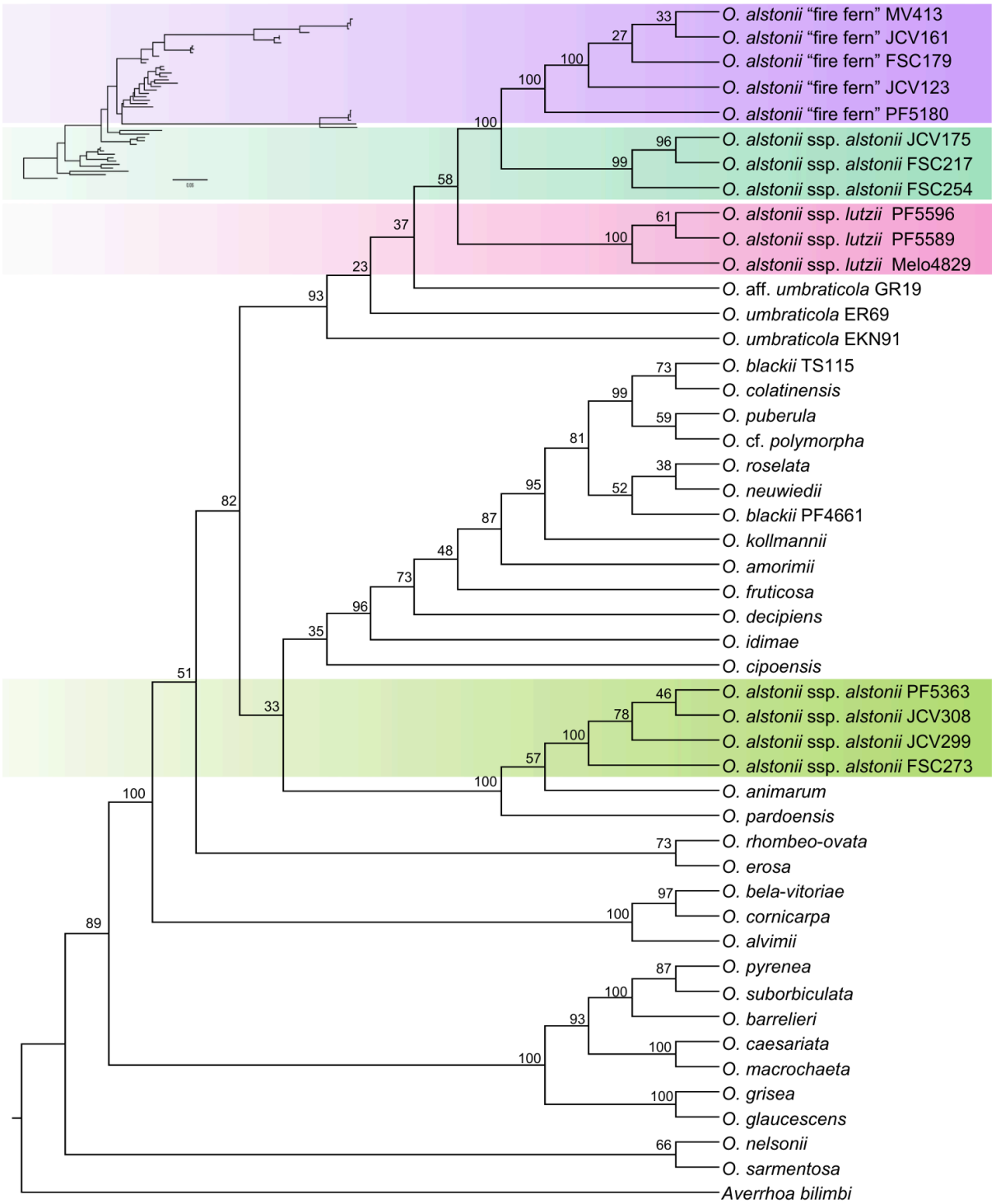


Figura 3. Árvore filogenética obtida pela análise de Máxima Verossimilhança da matriz concatenada. Os valores de suporte dos nós são apresentados como *bootstrap* (BS).

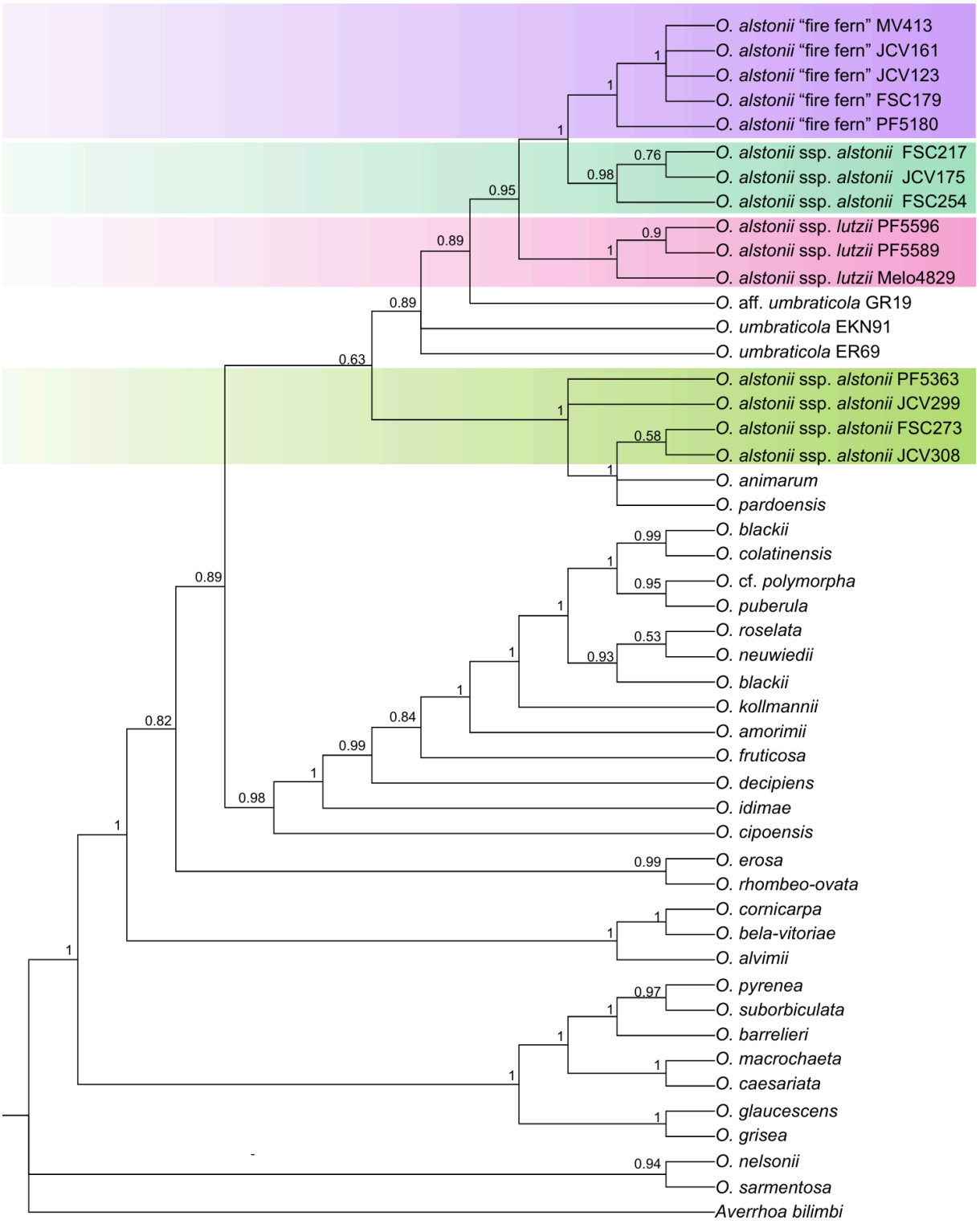


Figura 4. Árvore filogenética obtida pela análise de Inferência Bayesiana da matriz concatenada. Os valores de suporte dos nós são apresentados como probabilidade posterior (PP).

3.2 ANÁLISES DE DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES

As análises de delimitação molecular baseadas no marcador nrITS recuperaram cinco unidades moleculares principais, com resultados congruentes entre os métodos ASAP e PTP. As amostras de *O. alstonii* subsp. *lutzii* foram recuperadas como uma unidade exclusiva em todos os métodos, separada das amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii* e do cultivar ornamental "fire fern". As amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii*, por sua vez, não foram agrupadas em uma única unidade molecular, mas sim divididas em dois grupos: um formado pelos terminais PF5363, JCV 299, JCV308 e FSC273 (Figura 5; clado 1), e outro formado por FSC254, JCV175 e FSC217 (Figura 5; clado 2), este recuperado como grupo irmão das amostras do cultivar "fire fern" na análise.

O cultivar ornamental "fire fern" também não foi recuperado como uma única unidade. Quatro amostras do cultivar, JCV161, FSC179, JCV123 e MV413, formaram uma unidade molecular congruente entre ASAP e PTP, enquanto a amostra PF 5180 foi recuperada separadamente pelas duas análises. No PTP, as probabilidades associadas às unidades delimitadas variaram de 0,485 a 0,855, sendo mais altas para a unidade formada por "fire fern" PF5180 (0,855) e mais baixas para o clado 1 de *O. alstonii* subsp. *alstonii* (0,485).

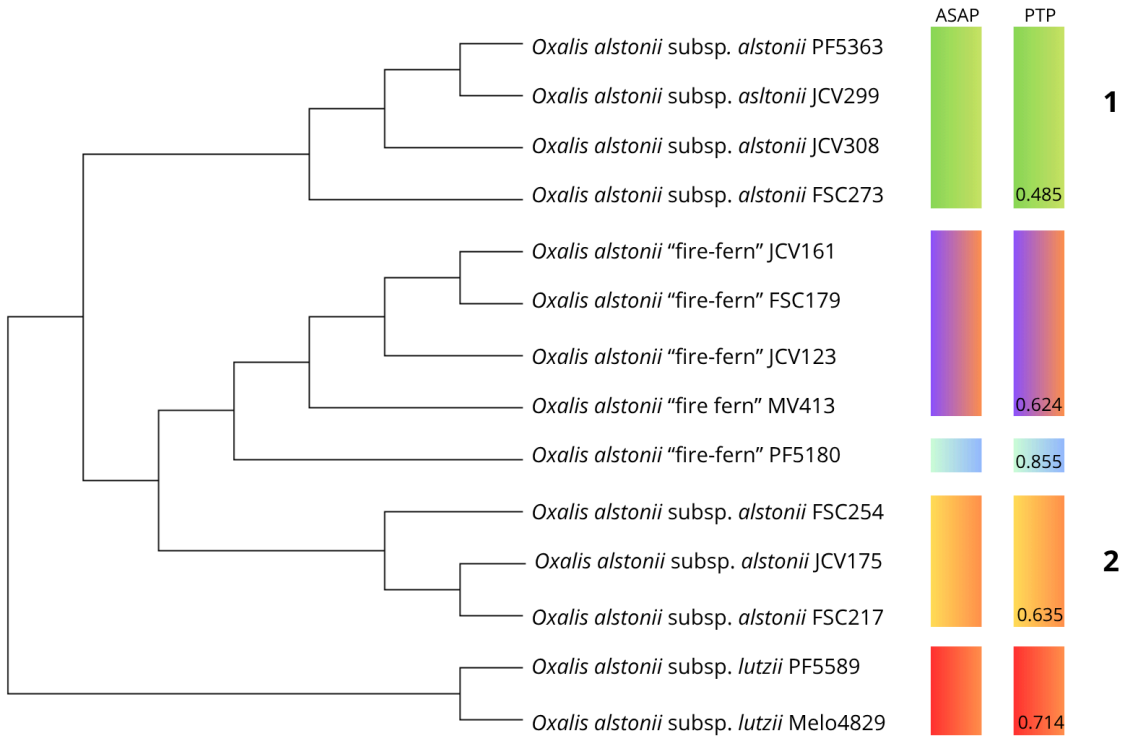


Figura 5. Delimitação molecular baseada no marcador nrITS em *O. alstonii* subsp. *alstonii*, *O. alstonii* subsp. *lutzii* e no cultivar ornamental "fire fern". As barras coloridas indicam as unidades moleculares recuperadas pelos métodos ASAP e PTP. Cores iguais em cada coluna correspondem a terminais agrupados na mesma unidade molecular. Os valores na coluna PTP representam as probabilidades associadas às unidades delimitadas.

3.3 ANÁLISES CITOGENÉTICAS

Ao todo foram analisadas nove amostras, cujos cromossomos metafásicos corados com DAPI são apresentados na Figura 6. Todas as amostras analisadas apresentaram 2n = 10 cromossomos, porém diferiram marcadamente quanto à morfologia cromossômica e à distribuição de tamanhos no cariótipo (Figura 7). As amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii* exibiram cariótipos assimétricos e bimodais, caracterizados pela presença de cromossomos grandes e pequenos, porém apresentaram mais de uma fórmula cariotípica (KF; Tabela 6). A KF foi estimada com base em pelo menos duas células para cada voucher, salvo exceções. A KF mais frequente entre as amostras dessa subespécie foi $4S_L + 6M_S$, observada nas amostras PF5352, PF5363, JCV82 e JCV299. A amostra JCV47 apresentou fórmula $3S_L + 1A_L + 6M_S$,

mas com morfologia medida a partir de somente uma célula em metáfase e é provável que ela também apresente $4S_L + 6M_S$. As amostras FSC217 e FSC218 apresentaram $2S_L + 4S_S + 4M_S$. Entre as amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii* para as quais foi estimado o comprimento cariotípico haploide (HKL), JCV299 e PF5363 apresentaram valores semelhantes, com 18,27 μm e 18,44 μm, respectivamente.

A amostra de *O. alstonii* subsp. *lutzii*, por sua vez, apresentou cariótipo unimodal, composto exclusivamente por cromossomos acrocêntricos (KF = 10A). Além da diferença na morfologia cromossômica, essa amostra apresentou comprimento cariotípico haploide consideravelmente superior ao observado nas amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii*, com HKL = 28,93 μm. Desse modo, agrupamos as amostras em quatro citótipos conforme consta na Tabela 6.

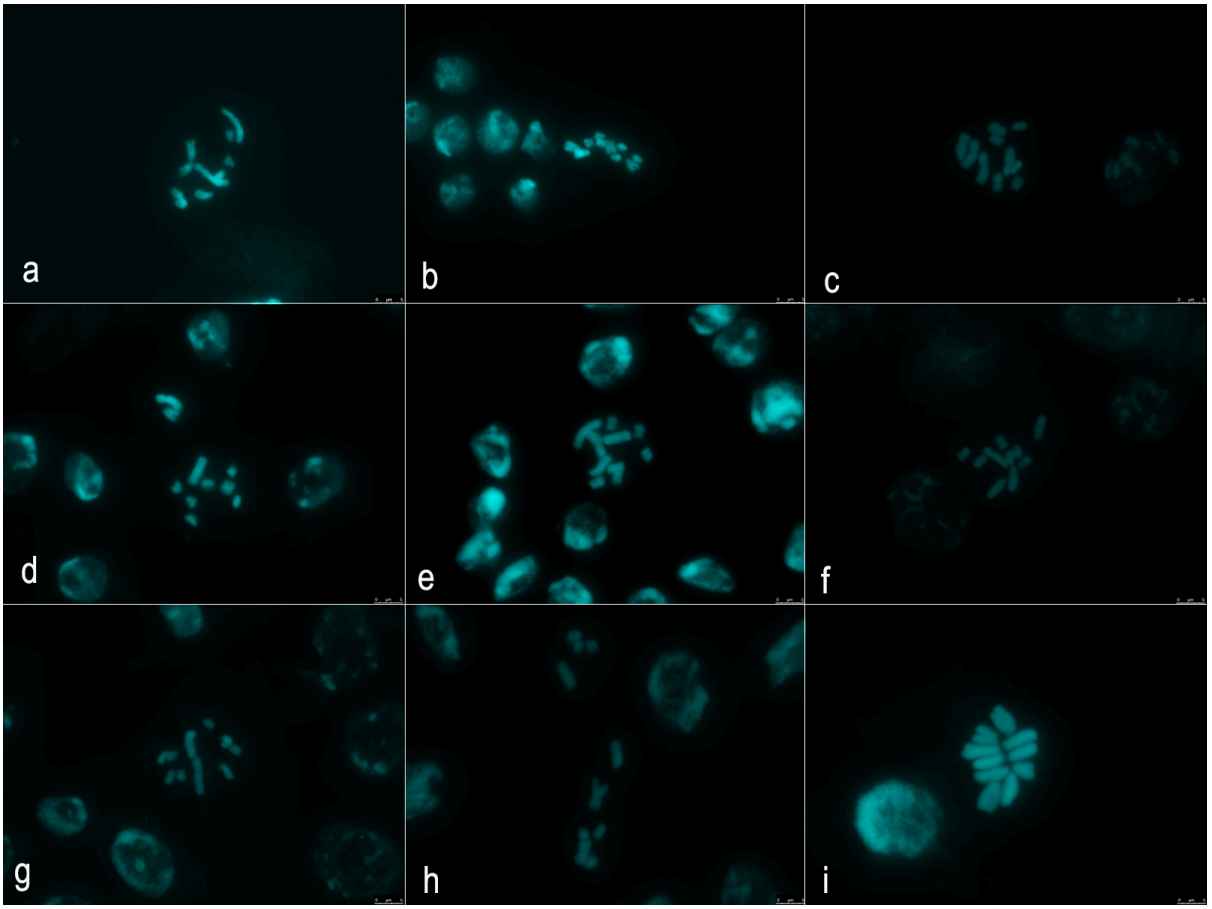


Figura 6. Cromossomos metafásicos das amostras analisadas de *Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*, *O. alstonii* subsp. *lutzii* e do cultivar ornamental "fire fern", corados por DAPI. **a.** *O. alstonii* "fire fern"; **b.** *O. alstonii* subsp. *alstonii* Vasques 82; **c.** *O. alstonii* subsp. *alstonii* Vasques 299; **d.** *O. alstonii* subsp. *alstonii* Cabral 217; **e.** *O. alstonii* subsp. *alstonii* Fiaschi 5363; **f.** *O. alstonii* subsp. *alstonii* Vasques 47; **g.** *O. alstonii* subsp. *alstonii* Cabral 218; **h.** *O. alstonii* subsp. *alstonii* Fiaschi 5352; **i.** *O. alstonii* subsp. *lutzii* Adrian 92. Todas as imagens estão apresentadas em escala. Fonte: Autoria própria. Fotos: J.Vasques.

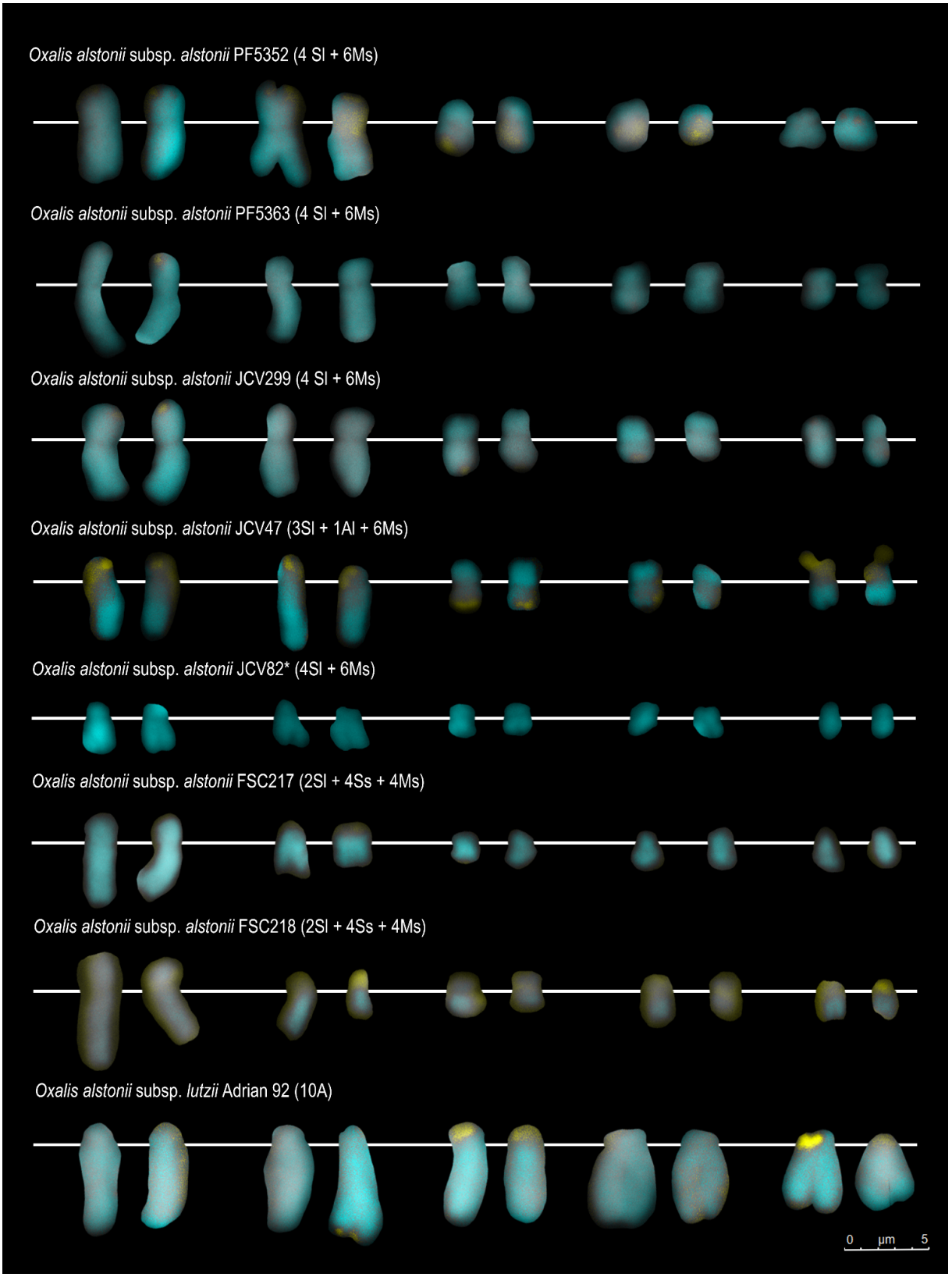


Figura 7. Cariogramas das amostras analisadas de *O. alstonii* subsp. *alstonii* e *O. alstonii* subsp. *lutzii*. As imagens dos cromossomos correspondem à sobreposição das marcações por

CMA e DAPI, exceto na amostra JCV82*, apresentada apenas com DAPI. A fórmula cariotípica é apresentada entre parênteses após o voucher de cada amostra. Abreviações: Sl = cromossomo grande submetacêntrico; Ss = cromossomo pequeno submetacêntrico; Ms = cromossomo pequeno metacêntrico; Al = cromossomo grande acrocêntrico; A = cromossomo acrocêntrico. Barra de escala = 5 μm. Fonte: Autoria própria. Fotos: J.Vasques.

Tabela 6. Dados citogenéticos das amostras analisadas. Abreviações: KF = fórmula cariotípica; HKL = comprimento cariotípico haploide; S_L = cromossomo grande submetacêntrico; S_S = cromossomo pequeno submetacêntrico; M_S = cromossomo pequeno metacêntrico; A_L = cromossomo grande acrocêntrico; A = cromossomo acrocêntrico. *KF medida com base em apenas uma célula.

Subespécies	Voucher	Localidade	KF	Citótipo	HKL (µm)
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 299	Serranópolis, MG	$4S_L + 6M_S$	1	18,27
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	P. Fiaschi 5363	Nova Roma, GO	$4S_L + 6M_S$	1	18,44
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	P. Fiaschi 5352	São Domingos, GO	$4S_L + 6M_S$	1	
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 47	Baixo Guandu, ES	$3S_L + 1A_L + 6M_S$*	1	
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	J.C. Vasques 82	Cardoso Moreira, RJ	$4S_L + 6M_S$	1	
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	F.S. Cabral 217	Miguel Calmon, BA	$2S_L + 4S_S + 4M_S$	2	
Oxalis alstonii subsp. *alstonii*	F.S. Cabral 218	Jacobina, BA	$2S_L + 4S_S + 4M_S$	2	
Oxalis alstonii subsp. *lutzii*	Adrian 92	São Domingos, GO	10A	3	28,93
Oxalis alstonii “fire fern”	M. Guerra s.n.	Recife, PE	$2A_L + 4S_S + 4M_S$	4	

Fonte: Autoria própria.

3.4 ANÁLISES MORFOLÓGICAS

As análises morfológicas evidenciaram diferenças consistentes entre *O. alstonii* subsp. *alstonii*, *O. alstonii* subsp. *lutzii* e o cultivar ornamental “fire fern” (Tabela 6). De modo geral, *O. alstonii* subsp. *alstonii* apresentou maior variação morfológica entre amostras da mesma subespécie, especialmente quanto ao indumento dos ramos jovens, à forma e coloração dos folíolos e ao comprimento dos ramos dicasiais. Essa subespécie é caracterizada por pedúnculos não alados, com 0,2–0,6 mm de largura, e ramos dicasiais variáveis, de inconspícuos a alongados, com 0,5–48 mm de comprimento. Os folíolos variaram de esverdeados a vináceos, glabros ou com tricomas adpressos em uma ou ambas as superfícies. O folíolo terminal apresentou ampla variação de forma, incluindo lâminas elípticas, obovadas, amplamente a muito amplamente obovadas, amplamente rômbicas, amplamente a muito amplamente truladas ou obtruladas (Figura 8).

Oxalis alstonii subsp. *lutzii*, por sua vez, apresentou um conjunto morfológico mais uniforme e distinto. As amostras analisadas possuem pedúnculos achatados, lateralmente alados, com 0,7–1,8 mm de largura, e ramos dicasiais fortemente reduzidos, inconspícuos ou com até ca. 2,5 mm de comprimento, conferindo aspecto congesto às inflorescências (Fig. 9t, u). Os folíolos são esverdeados, glabros em ambas as superfícies, por vezes ciliados apenas por tricomas curtos ao longo da porção proximal da margem. O folíolo terminal variou de elíptico a ovado ou muito amplamente ovado (Fig. 9c).

O cultivar ornamental “fire fern” foi analisado separadamente por apresentar características morfológicas particulares em relação às amostras silvestres de *O. alstonii*. As amostras atribuídas a esse cultivar apresentaram folíolos vináceos, glabros ou com tricomas adpressos ocasionais na face abaxial (Fig. 8d), além de ramos jovens com tricomas curtos e predominantemente adpressos. Assim como em *O. alstonii* subsp. *alstonii*, os pedúnculos não são alados, medindo 0,5–0,6 mm de largura, e os ramos dicasiais são desenvolvidos, com 7–18 mm de comprimento. Não foram observados frutos em nenhuma das amostras analisadas do cultivar “fire fern”. No entanto, uma amostra de *O. alstonii* subsp. *alstonii* proveniente de Ilhéus, BA (*J.L. Hage 1814*, CEPEC 38443), chamou atenção por apresentar mais semelhanças morfológicas com a forma ornamental, com relação ao indumento e formato dos folíolos, mas apresenta folíolos verdes e frutos.

As principais diferenças morfológicas entre os táxons estão sumarizadas na Tabela 7, e uma prancha de comparação morfológica entre *O. alstonii* subsp. *lutzii* e *O. alstonii* subsp. *alstonii* é apresentada na Figura 9.

Tabela 7. Comparação morfológica entre as duas subespécies de *O. alstonii* e a forma ornamental "fire fern".

Caracteres	***Oxalis alstonii* subsp. *alstonii***	***Oxalis alstonii* subsp. *lutzii***	***Oxalis alstonii* "fire fern"**
Ramo jovem (indumento)	Tricomas patentes, ascendentes, descendentes ou curvos, abundantes a muito abundantes, em conjunto com tricomas glandulares esparsos a abundantes, curtos unicelulares ou longos pluricelulares (Fig. 9l)	Tricomas curvos, antrorsos e retrorsos, esparsos a moderados, em conjunto com tricomas glandulares pluricelulares esparsos a moderados (Fig. 9b)	Tricomas curtos, adpressos, abundantes
Folíolos (coloração)	Esverdeado a vináceo	Esverdeado	Vináceo
Folíolo (indumento)	Glabro ou com tricomas adpressos, esparsos a abundantes em uma ou ambas as superfícies	Glabro em ambas as superfícies, por vezes ciliado ao longo da margem proximal (Fig. 9c, d)	Glabros ou com tricomas adpressos ocasionais na face abaxial
Folíolo terminal (forma)	Elíptico a amplamente elíptico, obovado a amplamente obovado, às vezes amplamente a muito amplamente ovado, ou obtrulado (Fig. 9m, n, o, p)	Elíptico, ovado a muito amplamente ovado, ou amplamente trulado (Fig. 9c)	Muito amplamente ovado (Fig. 8d)
Pedúnculo	Não alado, 0,2–0,6 mm larg. (Fig. 9t, u)	Alado, 0,7–1,8 mm larg. (Fig. 9g, h)	Não alado, achatado, canaliculado, 0,5–0,6 mm larg.

Ramos dicasiais	0,5–48 mm compr. (Fig. 9u)	Até 2,5 mm compr. (Fig. 9g, h, j)	7–18 mm compr., com marcas dos pedicelos na porção distal ou ao longo do ramo
Cápsula	1,5–3 × 1,5–2,8 mm, muito amplamente ovoide; lóculos unisseminados	1,8–2 × 3 mm, transversalmente elipsoide; lóculos unisseminados	Não produz

Fonte: Autoria própria.

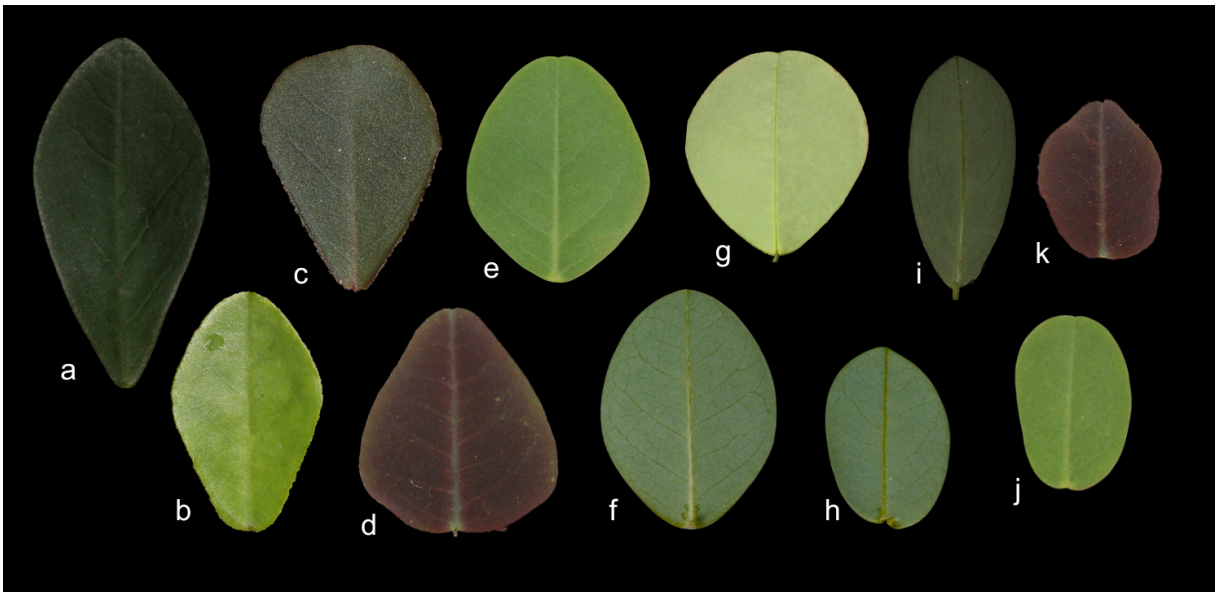


Figura 8. Diversidade morfológica dos folíolos de *O. alstonii* subsp. *alstonii*, incluindo o cultivar ornamental "fire fern" em **d** e **k**. **a–h.** Folíolos terminais; **i–l.** Folíolos laterais. **a, i.** JCV299; **b.** FSC273; **c.** FSC182; **d, k.** Carnevalli s.n.; **e, j.** PF5578; **f, h.** PF5352; **g.** JCV47. Fonte: Autoria própria. Fotos: J.Vasques (d, k) e P.Fiaschi.



Figura 9. Morfologia geral de *O. alstonii* subsp. *lutzii* (a–j) e *O. alstonii* subsp. *alstonii* (k–v). **a, f, k** Hábito. **b, l** Indumento do caule. **c, n, p** Folíolo terminal. **d** Folíolo lateral. **e, q** Flor. **g,**

h, t, u Inflorescência. **i, s** Infrutescência. **j, v** Cápsula. **m, r** Vista abaxial das folhas. **o** Vista adaxial da folha. Barras de escala: a–b = 10 mm; c–e, l–r, t–u = 5 mm; f = 20 mm; g–j, v = 3 mm; k = 15 mm; s = 2 mm. Fonte: Autoria própria. Fotos: Y. Gouvêa (e, f) e P.Fiaschi.

3.5 MAPA DE DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E HABITAT

As amostras atribuídas a *O. alstonii* “fire fern” não foram incluídas no mapa de distribuição geográfica, por se tratar de um cultivar ornamental amplamente cultivado. Até o momento, não foram encontradas populações naturais de *O. alstonii* com indivíduos apresentando o mesmo conjunto de características observado no cultivar “fire fern".

A distribuição geográfica de *O. alstonii* subsp. *alstonii* e *O. alstonii* subsp. *lutzii* é apresentada na Figura 10. As duas subespécies são endêmicas do Brasil, com registros acumulados nos domínios da Caatinga e Cerrado. Ambas as subespécies foram registradas nos estados da Bahia, Minas Gerais e Goiás, com algumas áreas de ocorrência muito próximas entre si. *Oxalis alstonii* subsp. *alstonii*, no entanto, apresenta distribuição mais ampla, ocorrendo também em Sergipe, Espírito Santo e Rio de Janeiro. Os registros de *O. alstonii* subsp. *alstonii* no Espírito Santo e no Rio de Janeiro estão inseridos integralmente no domínio da Mata Atlântica, em áreas de floresta estacional semidecídua.

A Figura 11 apresenta uma sobreposição dos registros de ocorrência com a camada de regiões de ocorrência de cavernas no Brasil, utilizada aqui como indicadora dos principais tipos de rochas. Observou-se que grande parte dos registros de ambas as subespécies está associada a áreas com predominância de rochas carbonáticas. Esse padrão foi especialmente evidente em localidades da Bahia, Minas Gerais e Goiás, onde os registros de *O. alstonii* subsp. *alstonii* e *O. alstonii* subsp. *lutzii* coincidem com regiões de solo cárstico proveniente da dissolução de rochas carbonáticas.

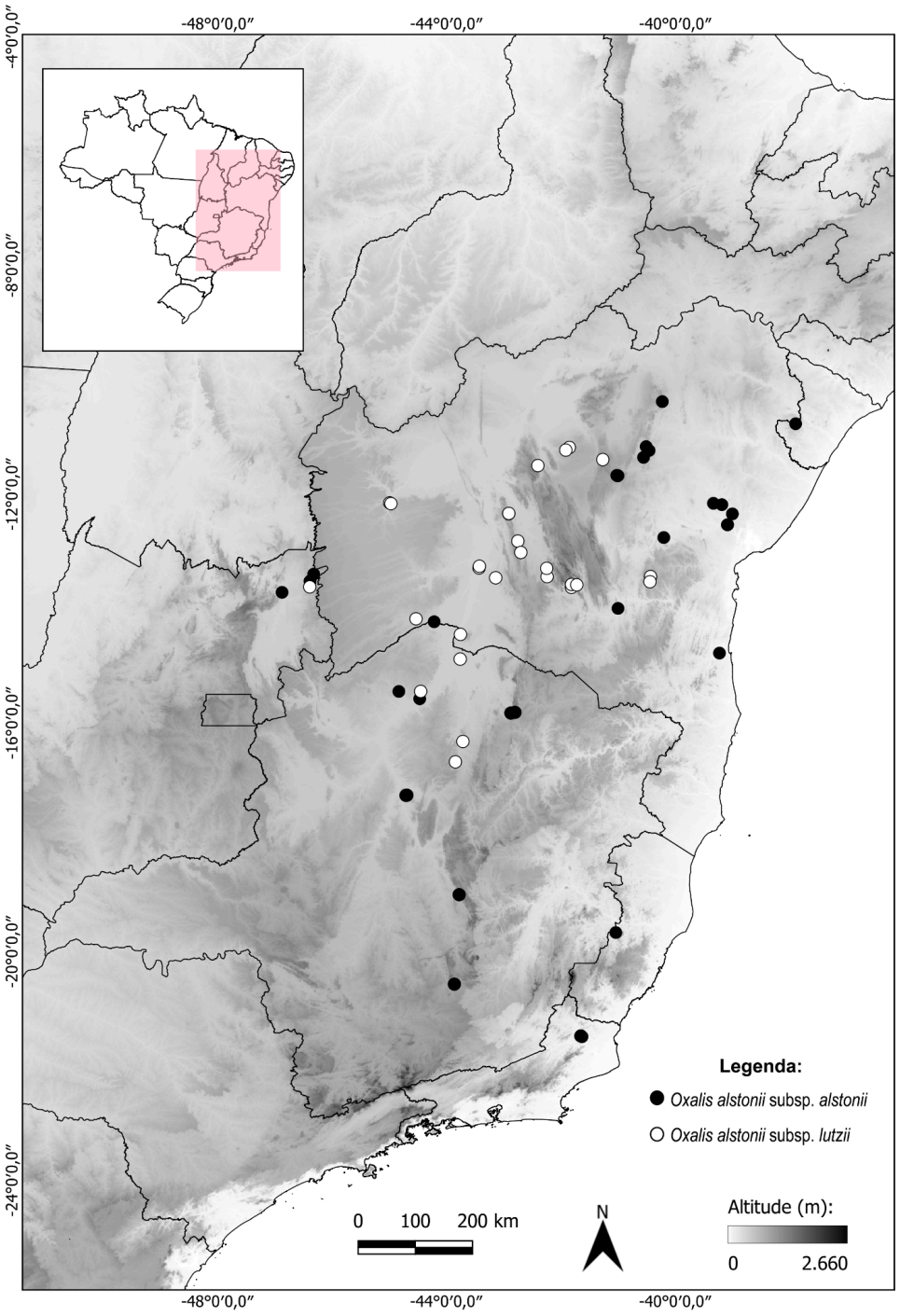


Figura 10. Mapa de distribuição geográfica de *O. alstonii* subsp. *alstonii* e *O. alstonii* subsp. *lutzii* no Brasil. Os pontos indicam os registros de ocorrência obtidos a partir de materiais examinados em herbários, coletas de campo e espécimes digitalizados verificados em bases de dados online. O cultivar ornamental "fire fern" não foi incluído por se tratar de material cultivado, sem populações silvestres conhecidas. O polígono vermelho no mapa de inserção corresponde à área apresentada no mapa principal. Fonte: Autoria própria.

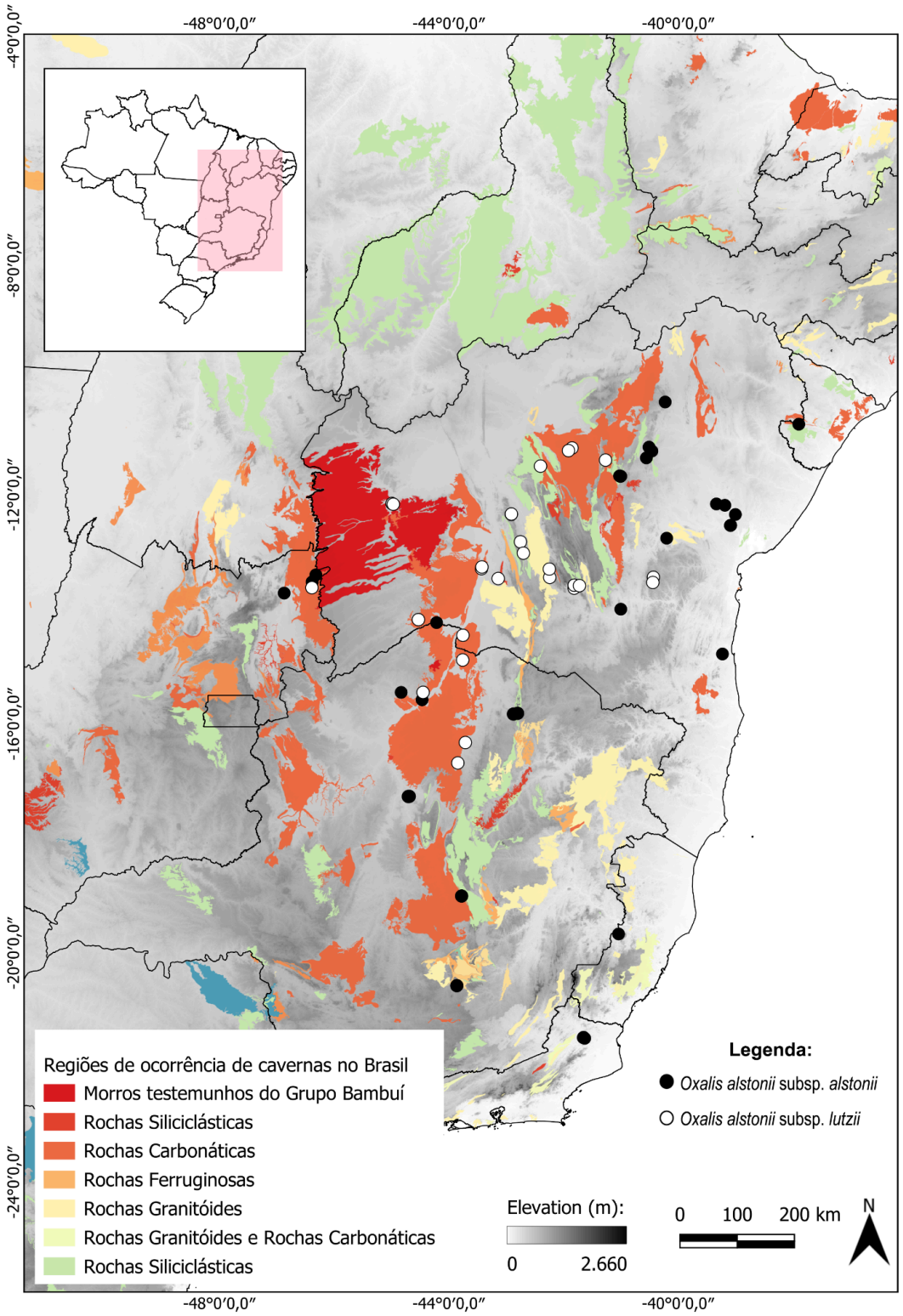


Figura 11. Distribuição geográfica de *O. alstonii* subsp. *alstonii* e *O. alstonii* subsp. *lutzii* sobreposta à camada de tipos de rocha associada às regiões de ocorrência de cavernas no Brasil. A sobreposição evidencia a ocorrência de ambas as subespécies, principalmente em

áreas associadas a rochas carbonáticas. O polígono vermelho no mapa de inserção corresponde à área apresentada no mapa principal. Fonte: CECAV/ICMBio, 2018; Autoria própria.

4 DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISES FILOGENÉTICAS

Estudos recentes em *O.* subg. *Thamnoxys* têm demonstrado que a filogenia molecular constitui uma ferramenta importante para reavaliar a circunscrição de espécies e táxons infraespecíficos (Vaio *et al*., 2018; Richetti *et al*., 2022; Fiaschi *et al*., 2025; Vasques *et al*., 2025). Esse padrão é particularmente evidente em *O.* sect. *Polymorphae*, seção historicamente marcada por espécies morfologicamente variáveis e por limites taxonômicos instáveis. A transferência de *O. rhombeo-ovata* para *O.* sect. *Psoraleoideae* (Vaio *et al*., 2018), a elevação de *O. neuwiedii* subsp. *pardoensis* ao nível específico (Richetti *et al*., 2022) e a segregação de diferentes espécies anteriormente incluídas no conceito amplo de *O. polymorpha* (Fiaschi *et al*., 2025) indicam que a diversidade da seção foi parcialmente obscurecida por circunscrições baseadas apenas em caracteres morfológicos.

As análises filogenéticas realizadas neste estudo reforçam esse cenário de complexidade em *O.* sect. *Polymorphae*. *Oxalis alstonii* subsp. *alstonii* não foi recuperada como monofilética, pois seus terminais foram posicionados em dois agrupamentos distintos. Em Vaio *et al*. (2018), apenas uma amostra de *O. alstonii* (MV413, também amostrada aqui), correspondente à forma ornamental “fire fern”, foi incluída na análise de inferência Bayesiana e recuperada como irmã de *O. umbraticola* com alto suporte (PP = 0.99). Cabral *et al*. (2024), no entanto, amostraram três terminais atribuídos a *O. alstonii*, incluindo duas amostras da “fire fern” também analisadas aqui (PF5180 e MV413) e um terminal de *O. alstonii* subsp. *alstonii* (IGC882). Nesse estudo, a espécie não foi recuperada como monofilética, pois a amostra IGC882 foi recuperada em posição externa ao clado principal de *O.* sect. *Polymorphae*, contribuindo para o não monofiletismo da seção como um todo. No presente trabalho, porém, essa sequência foi reavaliada e considerada de baixa qualidade, sendo excluída das análises. Ainda assim, é relevante notar que essa amostra é proveniente de Italva, no Rio de Janeiro, uma vez que outras amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii* provenientes de

populações da Mata Atlântica (JCV47 e JCV82) também apresentaram dificuldade de amplificação e sequenciamento do nrITS no presente trabalho e tiveram que ser excluídas das análises.

Em contraste com a subespécie típica, as três amostras de *O. alstonii* subsp. *lutzii* foram recuperadas como um clado com suporte máximo nas análises de Máxima Verossimilhança e Inferência Bayesiana. Essa subespécie foi incluída em análises moleculares anteriores somente por Fiaschi *et al.* (2025), em uma amostragem mais ampla de *O.* sect. *Polymorphae*. Nesse trabalho, foi incluída uma amostra de *O. alstonii* subsp. *lutzii*, que foi recuperada como irmã de *O. animarum*. Além disso, esse agrupamento foi posicionado dentro de um clado que também continha *O. umbraticola*, *O. pardoensis* e *O. cipoensis* (BS = 79; PP = 0.98). A seção foi recuperada como contendo dois subclados principais, um deles formado por *O. alstonii* subsp. *lutzii* + *O. animarum* + *O. umbraticola* + *O. pardoensis* + *O. cipoensis*, grupo irmão do resto das *O.* sect. *Polymorphae*. Entretanto, os autores não encontraram sinapomorfias morfológicas evidentes para este grupo. Os dois subclados foram parcialmente recuperados nas análises do presente trabalho. Na análise de BI, as mesmas espécies foram recuperadas em um clado com adição de *O. alstonii* subsp. *alstonii*, que não havia sido amostrada em Fiaschi *et al.* (2025), e a exclusão de *O. cipoensis*, que foi posicionada dentro do outro subclado da seção. No entanto, as relações de proximidade entre *O. alstonii* e as espécies *O. animarum*, *O. pardoensis* e *O. umbraticola* foram recuperadas novamente.

4.2 DELIMITAÇÃO MOLECULAR DE ESPÉCIES

As análises de delimitação molecular de espécies baseadas em nrITS recuperaram cinco unidades, em grande parte congruentes com os agrupamentos observados na filogenia. *Oxalis alstonii* subsp. *lutzii* foi recuperada como uma unidade molecular coesa em ASAP e PTP, separada das amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii* e do cultivar “fire fern”. *Oxalis alstonii* subsp. *alstonii* e “fire fern”, no entanto, foram divididos cada um em dois agrupamentos distintos.

Embora o nrITS seja amplamente empregado em estudos filogenéticos e taxonômicos de *Oxalis* (Vaio *et al*., 2013, 2016, 2018; Cabral *et al*., 2024; Fiaschi *et al*., 2025; Vasques *et al*., 2025), e tenha sido descrito como um espaçador com alta taxa de divergência

interespecífica, confiável para DNA barcoding (Chen *et al.,* 2010; Yao *et al.*, 2010; Bhat *et al.,* 2024), devemos interpretar os resultados aqui obtidos com cautela. As amostras incluídas na análise são filogeneticamente próximas e "fire fern" constitui uma forma ornamental, com uma alta conservação nas sequências por apresentar somente reprodução clonal. Além disso, a amostragem de *O. alstonii* subsp. *alstonii* não foi tão ampla quanto a distribuição da espécie, excluindo-se totalmente a diversidade das populações da Mata Atlântica, por exemplo.

Por essa razão, as unidades recuperadas nas análises de DNA barcoding devem ser interpretadas aqui como hipóteses de delimitação, e não como decisões taxonômicas autossuficientes. Pante *et al*. (2015) discutem que espécies devem ser compreendidas como hipóteses testáveis, e que hipóteses primárias de espécies (PSHs), frequentemente geradas por morfologia ou por um marcador molecular, devem ser avaliadas em um ciclo de taxonomia integrativa antes de serem convertidas em hipóteses secundárias (SSHs) e formalmente nomeadas. No caso dos resultados obtidos aqui, interpretamos os cinco agrupamentos como cinco PSHs obtidas, que serão interpretadas à luz de todas as outras evidências testadas.

4.3 CITOGENÉTICA

Os dados citogenéticos obtidos acrescentam outra linha de evidências à discussão dos limites da circunscrição de *O. alstonii*. Todas as amostras analisadas apresentaram 2n = 10 cromossomos, número compatível com o padrão conhecido para *O.* sect. *Polymorphae* após a exclusão de *O. rhombeo-ovata* da seção (Vaio *et al*., 2018) e já descrito para *O. alstonii* (de Azkue & Martínez, 1988; Vaio *et al.*, 2018; Guerra *et al.*, 2026). No entanto, uma vez que a morfologia cromossômica apresenta sinal filogenético em *O.* subg. *Thamnoxys* (Vaio *et al*., 2013, 2016, 2018; Guerra *et al*., 2026), a variação observada na morfologia cromossômica e na organização dos cariótipos entre as amostras de *O. alstonii* é relevante. Em *O.* sect. *Polymorphae*, cariótipos assimétricos e levemente bimodais são o padrão da seção (Guerra *et al.*, 2026). Todas as amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii* apresentaram cariótipos assimétricos e bimodais, enquanto *O. alstonii* subsp. *lutzii* apresentou cariótipo unimodal composto exclusivamente por cromossomos acrocêntricos.

A evolução cariotípica em *O.* subg. *Thamnoxys* tem sido interpretada como marcada por rearranjos cromossômicos intensos, incluindo mudanças na proporção de cromossomos

metacêntricos, submetacêntricos e acrocêntricos (Guerra *et al*., 2026). Rearranjos como inversões pericêntricas, translocações, fusões, fissões, deleções ou duplicações podem modificar a morfologia cromossômica e o comprimento do cariótipo, além de potencialmente reduzir a recombinação em determinadas regiões genômicas, favorecer a acumulação de combinações alélicas distintas e contribuir para a divergência populacional (Rieseberg, 2001; Levin, 2002; Lucek *et al.*, 2023). Uma vez que os cromossomos acrocêntricos surgem por acumulação progressiva a partir da substituição de cromossomos metacêntricos por acrocêntricos (Guerra *et al*., 2026), a acrocentrização total de um cariótipo é tratada como um dos extremos evolutivos da morfologia cromossômica (Stebbins, 1971; Araújo *et al.,* 2024; Guerra *et al.,* 2026) e é muito rara, não somente em *Oxalis* mas em angiospermas em geral (Guerra *et al.*, 2026). Em *O.* subg. *Thamnoxys*, estima-se que a acrocentrização total do cariótipo ocorreu pelo menos três vezes, uma vez em *O.* sect. *Robustae*, outra em *O. umbraticola* dentro de *O.* sect. *Polymorphae* e outra em *O. rhombeo-ovata* dentro de *O.* sect. *Psoraleoideae* (Guerra *et al.,* 2026).

Em Guerra *et al.* (2026), *Oxalis umbraticola* recebeu destaque por apresentar um cariótipo atípico dentro da seção, com KF = 10A. A ocorrência do mesmo padrão em *O. alstonii* subsp. *lutzii* amplia o número de espécies conhecidas de *O.* sect. *Polymorphae* com acrocentrização completa e aproxima citogeneticamente esse táxon de *O. umbraticola*. Embora não seja possível determinar se o cariótipo 10A de ambos os táxons resulta do mesmo evento evolutivo, a presença de um cariótipo tão distinto e morfologicamente extremo dentro do complexo *O. alstonii* fornece uma evidência relevante de diferenciação cromossômica.

Essa aproximação também é coerente com os resultados filogenéticos, nos quais *O. umbraticola* foi recuperada próxima ao clado que inclui *O. alstonii* subsp. *lutzii*. Além disso, o comprimento cariotípico haploide de *O. alstonii* subsp. *lutzii* foi superior ao observado nas amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii* e mais próximo dos valores registrados para *O. umbraticola* por Guerra *et al*. (2026). Segundo esses autores, a acrocentrização cariotípica em *O.* subg. *Thamnoxys* está frequentemente associada ao aumento do tamanho médio do genoma e do comprimento cariotípico haploide. Como o tamanho do genoma não foi estimado neste estudo, essa hipótese ainda não pode ser testada diretamente, mas os dados de HKL sugerem que *O. alstonii* subsp. *lutzii* pode compartilhar com *O. umbraticola* uma trajetória de diferenciação cromossômica marcada por acrocentrização e aumento relativo do cariótipo.

A ocorrência de 2n = 10 também contribui para esclarecer o posicionamento infragenérico de *O. alstonii* e do cultivar "fire fern". *Oxalis alstonii* foi originalmente descrita por Lourteig (1978) no contexto de *O.* sect. *Hedysaroideae*, e o cultivar "fire fern" ainda é frequentemente identificado como *O. hedysaroides* Kunth. Entretanto, a espécie citologicamente conhecida de *O.* sect. *Hedysaroideae*, *O. tessmannii* R.Knuth, apresenta 2n = 18 (de Azkue, 2000), enquanto as amostras de *O. alstonii* e da "fire fern" apresentam 2n = 10. Esse dado é compatível com *O.* sect. *Polymorphae* e corrobora a transferência de *O. alstonii* para essa seção realizada por Lourteig (1994).

Além disso, *Oxalis alstonii* subsp. *alstonii* apresentou dois citótipos distintos: o citótipo 1 com KF = $4S_L + 6M_S$ para a maioria das amostras analisadas, como JCV299, PF5363, PF5352, JCV47 e JCV82, provenientes de MG, GO, ES e RJ, e equivalente ao citótipo obtido por Guerra *et al.* (2026) para *O.* aff. *alstonii* (TSC124) de Italva (RJ); e o citótipo 2 com KF = $2S_L + 4S_S + 4M_S$ para duas amostras da Bahia (FSC217 e FSC218), equivalente ao obtido por Guerra *et al.* (2026) para as amostras LPF13241, de Feira de Santana (BA), e LPF18050, de Simão Dias (SE) (Guerra *et al*., 2026, citótipo I). Além disso, a KF da forma ornamental "fire fern" também foi equivalente à obtida por Guerra *et al.* (2026, citótipo II).

Uma comparação direta das KF obtidas no presente trabalho e em Guerra *et al.* (2026) não é a ideal, uma vez que esses autores utilizaram outra nomenclatura para nomear os cromossomos, chamando de M (metacêntrico e submetacêntrico) e de A (acrocêntrico e telocêntrico). No entanto, fica evidente a similaridade e a equivalência aos citótipos encontrados em ambos os trabalhos. Além disso, a KF = $2 A_L + 4 S_S + 4M_S$ obtida para a "fire fern" é mais próxima citogeneticamente ao citótipo 2 obtido aqui, variando somente no par de cromossomos grandes, que parece ter sofrido uma acrocentrização em "fire fern" (Guerra *et al*., 2026). Guerra *et al*. (2026) também observaram variação citogenética em amostras associadas à "fire fern", incluindo indícios de uma possível inversão pericêntrica em PF5180. Além disso, todos esses citótipos obtidos são bimodais, e há uma maior incidência de cromossomos metacêntricos no citótipo 1. Ainda, a separação de *O. alstonii* subsp. *alstonii* em dois citótipos distintos, além de um citótipo diferente para a forma "fire fern", mostra-se congruente com os agrupamentos obtidos na filogenia e nas análises de delimitação de espécies baseadas em DNA barcoding empregadas. Uma maior proximidade entre um dos

agrupamentos de *O. alstonii* subsp. *alstonii* (clado 2) com a forma “fire fern” também é sustentada pela citogenética.

4.4 MORFOLOGIA

Do ponto de vista morfológico, caracteres de inflorescência, ramificação, indumento e desenvolvimento dos ramos dicasiais são amplamente utilizados na taxonomia de *O.* subg. *Thamnoxys* (Eiten, 1963; Lourteig, 1994; Fiaschi *et al*., 2024, 2025). Na comparação entre as subespécies, os caracteres mais informativos obtidos para distinguir *O. alstonii* subsp. *lutzii* estão relacionados à arquitetura da inflorescência e já haviam sido destacados por Lourteig (1994) para embasar a descrição da subespécie. Os pedúnculos alados e os ramos dicasiais fortemente reduzidos, formando cimeiras congestas, foram confirmados nas amostras analisadas. O pedúnculo alado é particularmente importante porque trata-se da única ocorrência dentro da *O.* sect. *Polymorphae*, embora seja um carácter comum em espécies de *O.* sect. *Holophyllum* (Fiaschi *et al.*, 2024; Vasques *et al.*, 2024). Desse modo, essas características das inflorescências, quando associadas ao padrão de indumento e forma dos folíolos, compõem um conjunto diagnóstico consistente para *O. alstonii* subsp. *lutzii*.

Por outro lado, *Oxalis alstonii* subsp. *alstonii* apresentou uma grande variação na pubescência, na forma dos folíolos, no indumento e no comprimento dos ramos dicasiais. No entanto, as plantas apresentam plasticidade fenotípica em resposta a estímulos ambientais (Gratani *et al.*, 2014), e caracteres como a pubescência, a coloração dos folíolos e o comprimento dos ramos dicasiais apresentam variação intraespecífica relacionada ao ambiente em algumas espécies de *Oxalis* (Richetti *et al.*, 2022). Desse modo, não foi encontrado um padrão claro entre a morfologia das amostras analisadas e os agrupamentos moleculares e citogenéticos obtidos, com exceção da forma ornamental “fire fern”, que se manteve consistente, como esperado pela propagação majoritariamente clonal. Como exemplo, as amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii* do citótipo 1 provenientes do ES e RJ são muito similares às amostras do citótipo 2, da BA, especialmente quanto à pubescência do caule jovem e o formato dos folíolos. Por outro lado, as amostras do citótipo 1 de MG e GO compartilham similaridades quanto a esses caracteres, mas diferem com relação às amostras da BA, ES e RJ.

A presença de uma coleta semelhante às amostras da “fire fern”, mas fértil e com folíolos verdes (J.L. Hage 1814, CEPEC38443), proveniente de Ilhéus, BA, sugere que a forma ornamental pode ter origem em populações naturais de *O. alstonii* subsp. *alstonii*, possivelmente desse estado, e são congruentes com as evidências citogenéticas discutidas acima. Nesse sentido, a coloração vinácea intensa e a ausência de frutos devem ser interpretadas como características associadas ao cultivo.

4.5 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E HABITAT

Sobre a distribuição geográfica dos táxons, *O. alstonii* subsp. *lutzii* ocorre principalmente em áreas de Caatinga e transição Caatinga-Cerrado nos estados da Bahia, Minas Gerais e Goiás, frequentemente associada a ambientes rochosos, carrascais e substratos calcários. *Oxalis alstonii* subsp. *alstonii* também ocorre em áreas de Cerrado e Caatinga nesses estados, mas apresenta distribuição mais ampla, incluindo registros em Sergipe, Espírito Santo e Rio de Janeiro, frequentemente associada à margem de rios ou cursos d’água mais modestos.

Os registros do Espírito Santo e do Rio de Janeiro estão inseridos na Mata Atlântica, em formações de floresta estacional semidecídua, indicando que a subespécie típica ocupa uma amplitude ecológica maior do que *O. alstonii* subsp. *lutzii*. A proximidade geográfica entre as duas subespécies em áreas da Bahia, Minas Gerais e Goiás indica que as diferenças entre as duas não podem ser explicadas apenas por isolamento geográfico.

A revisão dos registros de ocorrência também permitiu refinar a distribuição conhecida de *O. alstonii* subsp. *alstonii* e *O. alstonii* subsp. *lutzii*. Lourteig (1994) reconheceu *O. alstonii* subsp. *lutzii* para Bahia e Minas Gerais; neste estudo, sua ocorrência é ampliada para o leste de Goiás, em área próxima à divisa com a Bahia. Por outro lado, registros atribuídos anteriormente a *O. alstonii* subsp. *alstonii* para o Ceará foram reavaliados e identificados como *O. puberula*, com base em caracteres como flores alvas, folíolos pubescentes adaxialmente e folhas agrupadas em pseudoverticilos, e por isso não foram amostrados nas análises do presente trabalho.

A sobreposição dos registros de ocorrência com áreas de rochas carbonáticas mostrou que grande parte das amostras de ambas as subespécies está associada a substratos calcários

ou solos cársticos, especialmente na Bahia, em Minas Gerais e em Goiás. Algumas espécies recuperadas como filogeneticamente próximas, como *O. umbraticola*, *O. pardoensis* e *O. cipoensis*, também parecem apresentar afinidade por ambientes semelhantes, como é o caso descrito para *O. cipoensis* (Fiaschi, 2012). Esse padrão sugere que a relação com substratos carbonáticos pode ser relevante em linhagens de *O.* sect. *Polymorphae*.

4.6 SÍNTESE INTEGRATIVA E IMPLICAÇÕES TAXONÔMICAS

Diante do conjunto de evidências apresentados, os dois agrupamentos distintos de *O. alstonii* subsp. *alstonii* devem permanecer como hipóteses primárias de espécies, ainda a serem testadas. Por mais que apresentem sustentação do ponto de vista molecular e variação citogenética, ainda carecem de diagnóstico morfológico consistente e de amostragem mais ampla. Estudos futuros com morfometria, dados genômicos, amostragem populacional e análises reprodutivas podem ser úteis para avaliar se esses agrupamentos correspondem a linhagens taxonomicamente distinguíveis. Até que essas evidências estejam disponíveis, *O. alstonii* subsp. *alstonii* deve ser mantida em circunscrição ampla, enquanto a “fire fern” deve ser tratada como forma ornamental associada a essa subespécie.

Por outro lado, *O. alstonii* subsp. *lutzii* apresenta um caso bem sustentado de delimitação taxonômica. A linhagem foi recuperada como monofilética, como um agrupamento com alto suporte nas análises de delimitação e com um cariótipo totalmente distinto do de *O. alstonii* subsp. *alstonii*. Além disso, o táxon apresenta um conjunto de caracteres morfológicos único dentro da seção, e pode ser facilmente diagnosticado. Desse modo, essa hipótese primária de espécie levantada pelas análises moleculares pode ser tratada como uma hipótese secundária, justificando a elevação de *O. alstonii* subsp. *lutzii* ao nível específico e a proposição de um tratamento taxonômico para a espécie.

5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho demonstram que *O. alstonii*, conforme tradicionalmente circunscrita, não representa uma entidade taxonômica única. A integração de evidências filogenéticas, de delimitação molecular, citogenéticas e morfológicas permitiu

reconhecer padrões consistentes de diferenciação entre *O. alstonii* subsp. *alstonii*, *O. alstonii* subsp. *lutzii* e o cultivar ornamental "fire fern".

As análises filogenéticas recuperaram *O. alstonii* subsp. *lutzii* como uma linhagem monofilética e distinta das amostras de *O. alstonii* subsp. *alstonii*. Esse resultado foi corroborado pelas análises de DNA barcoding, nas quais *O. alstonii* subsp. *lutzii* foi delimitada como agrupamento independente. As evidências citogenéticas também sustentaram essa separação, uma vez que *O. alstonii* subsp. *lutzii* apresentou cariótipo unimodal composto exclusivamente por cromossomos acrocêntricos, contrastando com os cariótipos bimodais observados em *O. alstonii* subsp. *alstonii*. Além disso, o cariótipo de *O. alstonii* subsp. *lutzii* é muito similar ao de *O. umbraticola*, espécie próxima filogeneticamente. Morfologicamente, *O. alstonii* subsp. *lutzii* distingue-se principalmente pelos pedúnculos alados, pelos ramos dicasiais fortemente reduzidos e pelo padrão de indumento dos ramos jovens e folíolos, características importantes para a diagnose de espécies do gênero e conjunto de caracteres único dentre espécies da seção *Polymorphae*.

A congruência entre essas diferentes linhas de evidência sustenta o reconhecimento de *O. alstonii* subsp. *lutzii* como uma linhagem evolutiva independente, justificando sua elevação ao nível específico. Esse resultado contribui para o refinamento da circunscrição taxonômica de *O.* sect. *Polymorphae* e está alinhado a revisões recentes que têm reavaliado táxons infraespecíficos em *Oxalis* à luz de abordagens integrativas. Com essa proposta, *O.* sect. *Polymorphae* passa a não incluir subespécies formalmente aceitas, reforçando a importância de testar criticamente categorias infraespecíficas historicamente estabelecidas. O tratamento taxonômico para a espécie é apresentado abaixo.

Por outro lado, as amostras atribuídas a *O. alstonii* subsp. *alstonii* apresentaram elevada variação morfológica, molecular e citogenética. As análises filogenéticas e de DNA barcoding indicaram a existência de dois agrupamentos entre essas amostras, enquanto os dados citogenéticos revelaram diferentes fórmulas cariotípicas entre os espécimes analisados. No entanto, os caracteres morfológicos disponíveis ainda apresentam sobreposição entre esses agrupamentos, não permitindo, neste momento, a proposição de novas alterações taxonômicas. Assim, considerando a elevação de *O. alstonii* subsp. *lutzii* ao nível específico, *Oxalis alstonii* deve ser mantida em circunscrição ampla, e os agrupamentos aqui recuperados

podem ser considerados hipóteses primárias de espécies que demandam estudos adicionais antes de uma decisão taxonômica ser tomada.

Além disso, o cultivar ornamental “fire fern” apresentou maior afinidade com *O. alstonii*, tanto molecularmente quanto na morfologia e no padrão cariotípico de algumas amostras. Embora as análises de DNA barcoding tenham indicado heterogeneidade molecular entre as amostras do cultivar, os dados disponíveis não sustentam seu reconhecimento como entidade taxonômica independente, especialmente se considerarmos a ausência de frutos nos indivíduos amostrados. Dessa forma, a “fire fern” é melhor interpretada como um cultivar ornamental associado a *O. alstonii*, provavelmente mantido por propagação clonal e selecionado por características vegetativas, como a coloração vinácea dos folíolos.

Por fim, este estudo evidencia que a diversidade de *O. alstonii* é maior e mais complexa do que previamente reconhecido. A elevação de *O. alstonii* subsp. *lutzii* ao nível específico representa um passo importante para uma compreensão mais precisa da diversidade em *O.* sect. *Polymorphae*, mas também revela a necessidade de estudos futuros com maior amostragem populacional, marcadores moleculares adicionais, dados reprodutivos e análises citogenéticas ampliadas para esclarecer os limites internos de *O. alstonii* e a origem do cultivar “fire fern”.

6 TRATAMENTO TAXONÔMICO

***Oxalis* sp. nov.**.—TYPE: Brazil, Minas Geraes, Rod. BR 122, 5 km N do trevo para Capitão Enéas, *G. et M. Hatschbach e Barbosa 56515,* 3.IV.1992 (*Holotype* P 00724136 ; *Isotypes*: CTES; HU 00078486; MBM 151301).

Description: Unbranched or few-branched **subshrub**, 20–70 cm tall; young stem 0.7–1.5 mm diam., with sparse to moderate, curved, antrorse and retrorse hairs, intermixed with sparse to moderate, pluricellular, glandular hairs. **Leaves** alternate, pinnate-trifoliolate, distributed along the stem, sometimes grouped distally or in pseudo-whorls; petioles 21–55 × 0.2–0.3 mm, adaxially canaliculate, with moderate, curved to ascending, short hairs, denser within the canal, intermixed with occasional glandular hairs; rachis 3–8.8 × 0.1–0.2 mm, similar to the petioles; petiolules pubescent. Leaflets membranous, greenish; the blade

glabrous on both surfaces, sometimes ciliate with short hairs along the proximal margin. Venation: midrib impressed to canaliculate adaxially, slightly prominent abaxially. Terminal leaflet blade 8–32 × 8–19 mm, elliptic, ovate to very widely ovate to very widely trullate, base cuneate, apex retuse; lateral leaflet blades 6–21 × 6–13 mm, elliptic. **Inflorescences** same length, shorter, or sometimes longer than the leaves; peduncle flattened dorsiventrally and laterally winged, the width homogeneous along the length, 22–100 × 0.7–1.8 mm, with sparse to moderate, short, curved hairs, intermixed with glandular hairs; dichasial branches 2, inconspicuous or up to ca. 2.5 mm long; bracts 1.2–1.4 × 0.3–0.4 mm, narrowly triangular, distally with few hairs; floral bracts 0.5–0.8 × 0.2–0.3 mm, triangular; pedicels 2–2.3 × 0.5–0.6 mm long (fl.), up to 4 mm long in fruit, articulated, leaving an inconspicuous foot of 0.4–0.6 mm long, with abundant, curved to patent hairs, intermixed with moderate, pluricellular, glandular hairs. Sepals 3.5–3.8 × 1.2–1.5 mm, ovate, with moderate to abundant, patent to curved hairs, intermixed with sparse to moderate, pluricellular, glandular hairs, the internal ones with hairs only centrally. Flower buds ca. 2.3 × 1.5 mm, with abundant, patent, glandular and non-glandular hairs. Corolla ca. 7.5 mm diam., yellow, with orange lines within the throat; mid-styled morph: shorter filaments ca. 1.6 mm long, glabrous; longer filaments ca. 4 mm long, dorsally appendiculate at ca. ⅓ of its length, distally pubescent; pistil: ovary ca. 0.6 mm long; styles ca. 1.5 mm long, pubescent, stigmas disc-shaped; the carpels externally pubescent, distally with long, patent hairs; gynophore 0.5–0.6 mm long. Capsules 1.8–2 × 3 mm, ½ or ⅓ shorter than the persistent sepals, transversely ellipsoid, the carpels distally with abundant, short hairs, locules 1-seeded.

Distribution and habitat: Endemic to Brazil, in the states of Bahia, eastern Goiás, and Minas Gerais. Occurs mainly in “carrascal” vegetation and transition areas between Cerrado and Caatinga, generally associated with rocky and karstic substrates.

Phenology: *Oxalis* sp. nov. was collected with flowers and fruits from January to May.

Examined material: BRAZIL. BAHIA: Riacho de Santana, ca. 35,9 km E de Bom Jesus da Lapa, na estrada para Caetité, caatinga arbórea na encosta de morro granítico, com grandes afloramentos, alt. 460 m., 13°27’44”S, 43°8’15”W, fl., fr., 12.II.2000, *L.P. de Queiroz*

et al. 5934 (ALCB). Malhada, Rod. para o Distr. de Cana Brava, 18 km S da sede municipal, 1,6 km do povoado de Serra de João Alves, caatinga arbórea, alt. 500 m., 14°27’9”S 43°45’12”W, 02.IV.2001, fl., fr., *J.G. Jardim et al. 3433* (ALCB, HUEFS). Oliveira dos Brejinhos, ca. 1,5 km da sede do município., área de mata que circunda a represa de captação de água da cidade, 16.IV.1999, fl., *S.C. de Santana et al. 779* (CEPEC, FLOR, MBML); idem, ca. 2,5 km a SW da cidade, na estrada à Pedra dos Tapuios, caatinga antropizada, alt. 690 m, 12°20’12”S, 42°54’29”W, fl., fr., *Fiaschi et al. 5589* (FLOR). Macaúbas, subida à Serra Poções, estrada para Canatiba, alt. 600–800 m, 20.IV.1996, fl., fr., *G. Hatschbach et al. 65113* (FLOR); idem, alt. 1000 m, 18.I.1997, fl., fr., *G. Hatschbach et al. 66148* (FLOR). Boquira, Serra Geral, Serra do Brejo Grande, 11.III.1998, fl., fr., *G. Hatschbach et al. 67605* (FLOR). MINAS GERAIS: Montes Claros, 17.V.2018, fl., *M.V.B. Xavier 238* (FLOR, MCCA); Rod. BR-122, próximo do trevo para Coronel Enéas, 19.III.1995, fl., *G. Hatschbach et al. 62042* (CESJ). Matias Cardoso, Horizonte do Gama, “lajedão”, afloramento calcário, floresta estacional decidual, alt. 505 m, 14°53′03″S, 43°45′27.34″W, fl., *P.H.A. Melo & F.F. Pezzini 4829* (FLOR).

Notes: *Oxalis* sp. nov. is the only species within the *O*. sect. *Polymorphae* that present winged peduncles, along with inconspicuous dichasial cymes. The species can also be distinguished from *O. umbraticola* by the young stem with sparse to moderate, curved, antrorse and retrorse hairs, intermixed with sparse to moderate pluricellular glandular hairs (*vs.* abundant, appressed, retrorse hairs), and the pubescent (*vs.* glabrous) pedicel.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, L. F. et al. What defines a bimodal karyotype? Bimodality revisited. **Caryologia**, v. 77, n. 4, p. 43–60, 2024. DOI: 10.36253/caryologia-3034.

AVDULOV, N. P. Karyosystematische Untersuchung der Familie Gramineen. **Bulletin of Applied Botany, Genetics and Plant Breeding**, suppl. 44, p. 1–428, 1931.

BACCI, L. F.; MICHELANGELI, F. A.; GOLDENBERG, R. Revisiting the classification of Melastomataceae: implications for habit and fruit evolution. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 190, n. 1, p. 1–24, 2019.

BEENTJE, H. J. **The Kew plant glossary: an illustrated dictionary of plant terms**. Kew: Royal Botanic Gardens, 2016. 171 p.

BHAT, A. R. et al. Curating and validating universally applicable primers for efficient ITS2-based DNA barcoding across plant taxa. **International Journal of Health & Allied Sciences**, v. 13, n. 1, p. 26–33, 2024.

BRABY, M. F.; EASTWOOD, R.; MURRAY, N. The subspecies concept in butterflies: has its application in taxonomy and conservation biology outlived its usefulness? **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 106, n. 4, p. 699–716, 2012. DOI: 10.1111/j.1095-8312.2012.01909.x.

BRINEGAR, C. The true redwood sorrel: reinstatement of *Oxalis smalliana* (Oxalidaceae) as a species separate from *Oxalis oregana*. **Madroño**, v. 69, n. 4, p. 304–326, 2023.

BURT, W. H. Mammalogy: the subspecies category in mammals. **Systematic Zoology**, v. 3, n. 3, p. 99–104, 1954.

CABRAL, F. S.; LIMA, D. F.; FIASCHI, P. Taxonomic novelties in *Oxalis* sect. *Polymorphae* (Oxalidaceae): thirty years of time lag modify species richness centers in the Brazilian Atlantic Forest. **Systematic Botany**, in press.

CABRAL, F. S.; LIMA, D. F.; VAIO, M.; FIASCHI, P. Molecular phylogenetics of *Oxalis* subg. *Thamnoxys* (Oxalidaceae) reveals artificial arrangements of traditional sections. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 204, n. 2, p. 174–186, 2024.

CADDAH, M. K. et al. Species limits in the *Kielmeyera coriacea* complex (Calophyllaceae): a multidisciplinary approach. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 168, n. 1, p. 101–115, 2012.

CANHOS, D. A. L. et al. speciesLink: rich data and novel tools for digital assessments of biodiversity. **Biota Neotropica**, v. 22, n. esp., e20221394, 2022.

CARTA, A.; BEDINI, G.; PERUZZI, L. Unscrambling phylogenetic effects and ecological determinants of chromosome number in major angiosperm clades. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, 14258, 2018.

CATALÁN, P. et al. Evolution and taxonomic split of the model grass *Brachypodium distachyon*. **Annals of Botany**, v. 109, n. 2, p. 385–405, 2012.

CECAV/ICMBIO. **Área de ocorrência de cavernas no Brasil**. Brasília, DF: Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Cavernas, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, 2018. Disponível em: https://www.gov.br/icmbio/pt-br/assuntos/centros-de-pesquisa/cavernas/publicacoes/Area%20de%20Ocorrencia%20de%20Cavernas. Acesso em: 20 jun. 2026.

CHASE, M. W. et al. Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL*. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 80, n. 3, p. 528–580, 1993.

CHASE, M. W.; FAY, M. F. Barcoding of plants and fungi. **Science**, v. 325, n. 5941, p. 682–683, 2009.

CHEN, S. et al. Validation of the ITS2 region as a novel DNA barcode for identifying medicinal plant species. **PLOS ONE**, v. 5, n. 1, e8613, 2010.

CHENG, T. et al. Barcoding the kingdom Plantae: new PCR primers for ITS regions of plants with improved universality and specificity. **Molecular Ecology Resources**, v. 16, n. 1, p. 138–149, 2016.

CHRISTENHUSZ, M. J. M.; FAY, M. F.; CHASE, M. W. **Plants of the world: an illustrated encyclopedia of vascular plants**. Chicago: University of Chicago Press, 2017.

COWAN, R. S.; FAY, M. F. Challenges in the DNA barcoding of plant material. In: BATLEY, J. (ed.). **Plant DNA fingerprinting and barcoding: methods and protocols**. Totowa: Humana Press, 2012. p. 23–33.

DARRIBA, D. et al. jModelTest 2: more models, new heuristics and high-performance computing. **Nature Methods**, v. 9, n. 8, p. 772, 2012.

DA SILVA, T. F. et al. Species delimitation by DNA barcoding reveals undescribed diversity in Stelliferinae (Sciaenidae). **PLOS ONE**, v. 18, n. 12, e0296335, 2023.

DAYRAT, B. Towards integrative taxonomy. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 85, n. 3, p. 407–417, 2005.

DE AZKUE, D. Chromosome diversity of South American *Oxalis* (Oxalidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 132, n. 2, p. 143–152, 2000.

DE AZKUE, D.; MARTÍNEZ, A. The chromosome complements of shrubby *Oxalis* species from South America. **Plant Systematics and Evolution**, v. 141, n. 3, p. 187–197, 1983. DOI: 10.1007/BF00989001.

DE AZKUE, D.; MARTÍNEZ, A. DNA content and chromosome evolution in the shrubby *Oxalis*. **Genome**, v. 30, n. 1, p. 52–57, 1988.

DE QUEIROZ, K. The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation. In: HOWARD, D. J.; BERLOCHER, S. H. (ed.). **Endless forms: species and speciation**. New York: Oxford University Press, 1998. p. 57–75.

DE QUEIROZ, K. Species concepts and species delimitation. **Systematic Biology**, v. 56, n. 6, p. 879–886, 2007. DOI: 10.1080/10635150701701083.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. DNA isolation from small amount of plant tissue. **Phytochemical Bulletin**, v. 57, p. 13–15, 1991.

EITEN, G. Taxonomy and regional variation of *Oxalis* section *Corniculatae*. I. Introduction, keys and synopsis of the species. **American Midland Naturalist**, v. 69, n. 2, p. 257–309, 1963.

FIASCHI, P. Two new species of *Oxalis* sect. *Polymorphae* (Oxalidaceae) from the Brazilian Atlantic Forest. **Kew Bulletin**, v. 67, p. 33–38, 2012.

FIASCHI, P. Three new species and a revised key to species of *Oxalis* section *Polymorphae* (Oxalidaceae). **Brittonia**, v. 66, p. 134–150, 2014.

FIASCHI, P. et al. Systematics of *Oxalis* subgenus *Thamnoxys* section *Holophyllum* (Oxalidales, Oxalidaceae). **Systematic Botany**, v. 49, n. 1, p. 154–191, 2024.

FIASCHI, P. et al. Updating the taxonomy of polymorphic plant taxa: six Atlantic Forest species segregated from the widely circumscribed *Oxalis polymorpha* Mart. ex Zucc. (Oxalidales, Oxalidaceae). **European Journal of Taxonomy**, v. 989, p. 144–188, 2025. DOI: 10.5852/ejt.2025.989.2891.

FIASCHI, P.; COSTA-LIMA, J. L.; ABREU, M. C.; COSTA, T. S. *Oxalis*. In: FLORA E FUNGA DO BRASIL. **Flora e Funga do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Disponível em: http://servicos.jbrj.gov.br/flora/search/Oxalis. Acesso em: 5 jun. 2026.

GARCÍA, M. A. A new western Mediterranean species of *Cuscuta* (Convolvulaceae) confirms the presence of holocentric chromosomes in subgenus *Cuscuta*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 135, p. 169–178, 2001. DOI: 10.1006/bojl.2000.0387.

GARDNER, A. G. **Using molecular phylogenetics to unravel morphological shifts, niche transitions, and geographic expansion at two different scales in the plant genus *Oxalis* (Oxalidaceae)**. 2013. 167 f. Tese (Doutorado em Botânica) – University of Wisconsin-Madison, Madison, 2013. Disponível em: https://www.proquest.com/docview/1428164964. Acesso em: 20 Abr. 2026.

GRATANI, L. Plant phenotypic plasticity in response to environmental factors. **Advances in Botany**, v. 2014, e208747, 2014.

GUERRA, M. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan et al. **Revista Brasileira de Genética**, v. 9, p. 741–743, 1986.

GUERRA, M. Mitotic and meiotic analysis of a pericentric inversion associated with a tandem duplication in *Eleutherine bulbosa*. **Chromosoma**, v. 97, p. 80–87, 1988. DOI: 10.1007/BF00331797.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 120, n. 3–4, p. 339–350, 2008. DOI: 10.1159/000121083.

GUERRA, M. et al. Deep karyotypic and genomic changes drive the evolution of *Oxalis* subgenus *Thamnoxys* (Oxalidaceae). **Annals of Botany**, p. mcag060, 2026.

HAIDER, N. A brief review on plant taxonomy and its components. **The Journal of Plant Science Research**, v. 34, n. 2, p. 277–292, 2018.

HEBERT, P. D. N. et al. Biological identifications through DNA barcodes. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 270, n. 1512, p. 313–321, 2003. DOI: 10.1098/rspb.2002.2218.

HILLIS, D. M. Species delimitation in herpetology. **Journal of Herpetology**, v. 53, n. 1, p. 3–12, 2019.

HIROTA, S. K. et al. Molecular phylogeny and taxonomy of the *Hydrangea serrata* complex (Hydrangeaceae) in western Japan, including a new subspecies of *H. acuminata* from Yakushima. **PhytoKeys**, v. 188, p. 49–71, 2022.

JUDD, W. S. et al. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. Tradução de André Olmos Simões et al. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.

KAPLI, P. et al. Multi-rate Poisson tree processes for single-locus species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo. **Bioinformatics**, v. 33, n. 11, p. 1630–1638, 2017. DOI: 10.1093/bioinformatics/btx025.

KATOH, K.; STANDLEY, D. M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 4, p. 772–780, 2013.

LEVIN, D. A. **The role of chromosome changes in plant evolution**. New York: Oxford University Press, 2002.

LOURTEIG, A. “Fire-fern”: *Oxalis alstonii* Lourt. n. sp. (Oxalidaceae). **Bradea**, v. 2, n. 44, p. 292–294, 1978.

LOURTEIG, A. *Oxalis* L. subgênero *Thamnoxys* (Endl.) Reiche emend. Lourt. **Bradea**, v. 7, p. 1–199, 1994.

LOURTEIG, A. *Oxalis* L. subgenera *Monoxalis* (Small) Lourteig, *Oxalis* and *Trifidus* Lourteig. **Bradea**, v. 7, p. 201–629, 2000.

LUCEK, K. et al. The impact of chromosomal rearrangements in speciation: from micro- to macroevolution. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 15, a041447, 2023. DOI: 10.1101/cshperspect.a041447.

MACE, G. M. The role of taxonomy in species conservation. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 359, n. 1444, p. 711–719, 2004. DOI: 10.1098/rstb.2003.1454.

MANDÁKOVÁ, T.; LYSAK, M. A. Post-polyploid diploidization and diversification through dysploid changes. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 42, p. 55–65, 2018. DOI: 10.1016/j.pbi.2018.03.001.

MAYO, S. J. Plant taxonomic species and their role in the workflow of integrative species delimitation. **Kew Bulletin**, v. 77, n. 1, p. 1–26, 2022. DOI: 10.1007/s12225-022-10002-x.

MAYR, E. **Systematics and the origin of species**. New York: Columbia University Press, 1942.

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: GATEWAY COMPUTING ENVIRONMENTS WORKSHOP, 2010, New Orleans. **Proceedings [...]**. New Orleans: IEEE, 2010. p. 1–8. Disponível em: http://www.phylo.org/. Acesso em: 20 jun. 2026.

MORELL, M. et al. DNA profiling techniques for plant variety identification. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v. 35, p. 807–819, 1995. DOI: 10.1071/EA9950807.

NERY, E. K.; FIASCHI, P. Geometric morphometrics dismiss the polymorphic *Hydrocotyle quinqueloba* (Araliaceae) from the Neotropics. **Systematic Botany**, v. 44, n. 2, p. 451–469, 2019. DOI: 10.1600/036364419X15561132273558.

NERY, E. K. et al. Delimiting a constellation: integrative taxonomy of a star-shaped *Hydrocotyle* species complex (Araliaceae) from the Brazilian Atlantic Forest. **Plant Systematics and Evolution**, v. 306, n. 3, 2020. DOI: 10.1007/s00606-020-01682-8.

OLIVARES, I. et al. The likelihood of sympatric speciation and morphological divergence in plants. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 122, n. 34, e2508958122, 2025.

PADIAL, J. M.; DE LA RIVA, I. A paradigm shift in our view of species drives current trends in biological classification. **Biological Reviews**, v. 96, n. 2, p. 731–751, 2020.

PADIAL, J. M. et al. The integrative future of taxonomy. **Frontiers in Zoology**, v. 7, n. 16, p. 1–14, 2010. DOI: 10.1186/1742-9994-7-16.

PANTE, E. et al. Species are hypotheses: avoid connectivity assessments based on pillars of sand. **Molecular Ecology**, v. 24, n. 3, p. 525–544, 2015.

PARADIS, E.; SCHLIEP, K. ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. **Bioinformatics**, v. 35, p. 526–528, 2019. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty633.

PESSOA, E. M. et al. Integrating different tools to disentangle species complexes: a case study in *Epidendrum* (Orchidaceae). **Taxon**, v. 61, n. 4, p. 721–734, 2012. DOI: 10.1002/tax.614002.

PESSOA, E. et al. A natural hybrid, an autopolyploid, or a new species? An integrative case study of a distinctive *Costus* species (Costaceae) from the Atlantic Forest of Brazil. **Systematics and Biodiversity**, v. 18, n. 1, p. 42–56, 2020.

PUILLANDRE, N. et al. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. **Molecular Ecology**, v. 21, n. 8, p. 1864–1877, 2012.

PUILLANDRE, N.; BROUILLET, S.; ACHAZ, G. ASAP: assemble species by automatic partitioning. **Molecular Ecology Resources**, v. 21, n. 2, p. 609–620, 2020.

QGIS DEVELOPMENT TEAM. **QGIS Geographic Information System.** Version 3.30.1. Open Source Geospatial Foundation Project, 2023. Disponível em: https://www.qgis.org/. Acesso em: 29 abr. 2026.

RADFORD, A. E. **Fundamentals of plant systematics**. New York: Harper & Row, 1986. 498 p.

RADFORD, A. E.; DICKISON, W. C.; MASSEY, J. R.; BELL, C. R. **Vascular plant systematics**. New York: Harper & Row, 1974. 891 p.

RAMBAUT, A. et al. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. **Systematic Biology**, v. 67, n. 5, p. 901–904, 2018.

RICHETTI, E. et al. Morphoanatomy and phylogenetics reveal a distinct species of *Oxalis* sect. *Polymorphae* (Oxalidaceae) from the Brazilian Atlantic Forest. **Plant Systematics and Evolution**, v. 308, n. 2, 2022. DOI: 10.1007/s00606-022-01807-1.

RIESEBERG, L. H. Chromosomal rearrangements and speciation. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 16, p. 351–358, 2001. DOI: 10.1016/S0169-5347(01)02187-5.

RONQUIST, F. et al. MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. **Systematic Biology**, v. 61, n. 3, p. 539–542, 2012.

ROUHAN, G.; GAUDEUL, M. Plant taxonomy: a historical perspective, current challenges, and perspectives. In: BESSE, P. (ed.). **Molecular plant taxonomy**. Totowa: Humana Press, 2014. p. 1–37. (Methods in Molecular Biology, v. 1115). DOI: 10.1007/978-1-62703-767-9_1.

SANGER, F.; NICKLEN, S.; COULSON, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 74, n. 12, p. 5463–5467, 1977. DOI: 10.1073/pnas.74.12.5463.

SAVOLAINEN, V.; CHASE, M. W. A decade of progress in plant molecular phylogenetics. **Trends in Genetics**, v. 19, n. 12, p. 717–724, 2003.

SHAW, J. et al. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. **American Journal of Botany**, v. 94, n. 3, p. 275–288, 2007.

SITES JR., J. W.; MARSHALL, J. C. Operational criteria for delimiting species. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 35, n. 1, p. 199–227, 2004.

SPECIESLINK. ***speciesLink* network.** Campinas: Centro de Referência em Informação Ambiental, 2026. Disponível em: https://specieslink.net/. Acesso em: 20 jun. 2026.

STAMATAKIS, A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. **Bioinformatics**, v. 30, n. 9, p. 1312–1313, 2014.

STEBBINS, G. L. **Chromosomal evolution in higher plants**. London: Edward Arnold, 1971.

TABERLET, P. et al. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. **Plant Molecular Biology**, v. 17, p. 1105–1109, 1991.

THIELE, K. R. et al. DNA sequences as types: a discussion paper from the Special-purpose Committee established at the XIX International Botanical Congress in Shenzhen, China. **Taxon**, v. 72, n. 5, p. 965–973, 2023.

THIERS, B. **Index Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff**. New York: New York Botanical Garden's Virtual Herbarium, continuously updated. Disponível em: https://sweetgum.nybg.org/science/ih/. Acesso em: 20 jun. 2026.

TINEO, D. et al. An integrative approach reveals five new species of highland papayas (Caricaceae, *Vasconcellea*) from northern Peru. **PLOS ONE**, v. 15, n. 12, e0242469, 2020. DOI: 10.1371/journal.pone.0242469.

VAIO, M. et al. Molecular phylogeny and chromosome evolution among the creeping herbaceous *Oxalis* species of sections *Corniculatae* and *Ripariae* (Oxalidaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 68, n. 2, p. 199–211, 2013. DOI: 10.1016/j.ympev.2013.03.019.

VAIO, M. et al. Phylogenetic and cytogenetic relationships among species of *Oxalis* section *Articulatae* (Oxalidaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 302, p. 1253–1265, 2016.

VAIO, M. et al. Multiple karyotype changes distinguish two closely related species of *Oxalis* (*O. psoraleoides* and *O. rhombeo-ovata*) and suggest an artificial grouping of section *Polymorphae* (Oxalidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 188, p. 269–280, 2018. DOI: 10.1093/botlinnean/boy054.

VASQUES, J. C.; VAGO, W. A.; FIASCHI, P. A new species of *Oxalis* sect. *Holophyllum* (Oxalidaceae) from the Brazilian state of Espírito Santo, discovered with the help of citizen science. **Phytotaxa**, v. 663, n. 5, p. 294–300, 2024.

VASQUES, J. C. et al. Hidden behind narrow leaves: integrative taxonomy reveals a misplaced new species of *Oxalis* section *Foliosae* (Oxalidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, boaf065, 2025.

WU, Y. H. et al. DNA barcoding of Chinese snakes reveals hidden diversity and conservation needs. **Molecular Ecology Resources**, v. 23, n. 5, p. 1124–1141, 2023.

YAO, H. et al. Use of ITS2 region as the universal DNA barcode for plants and animals. **PLOS ONE**, v. 5, n. 10, e13102, 2010.

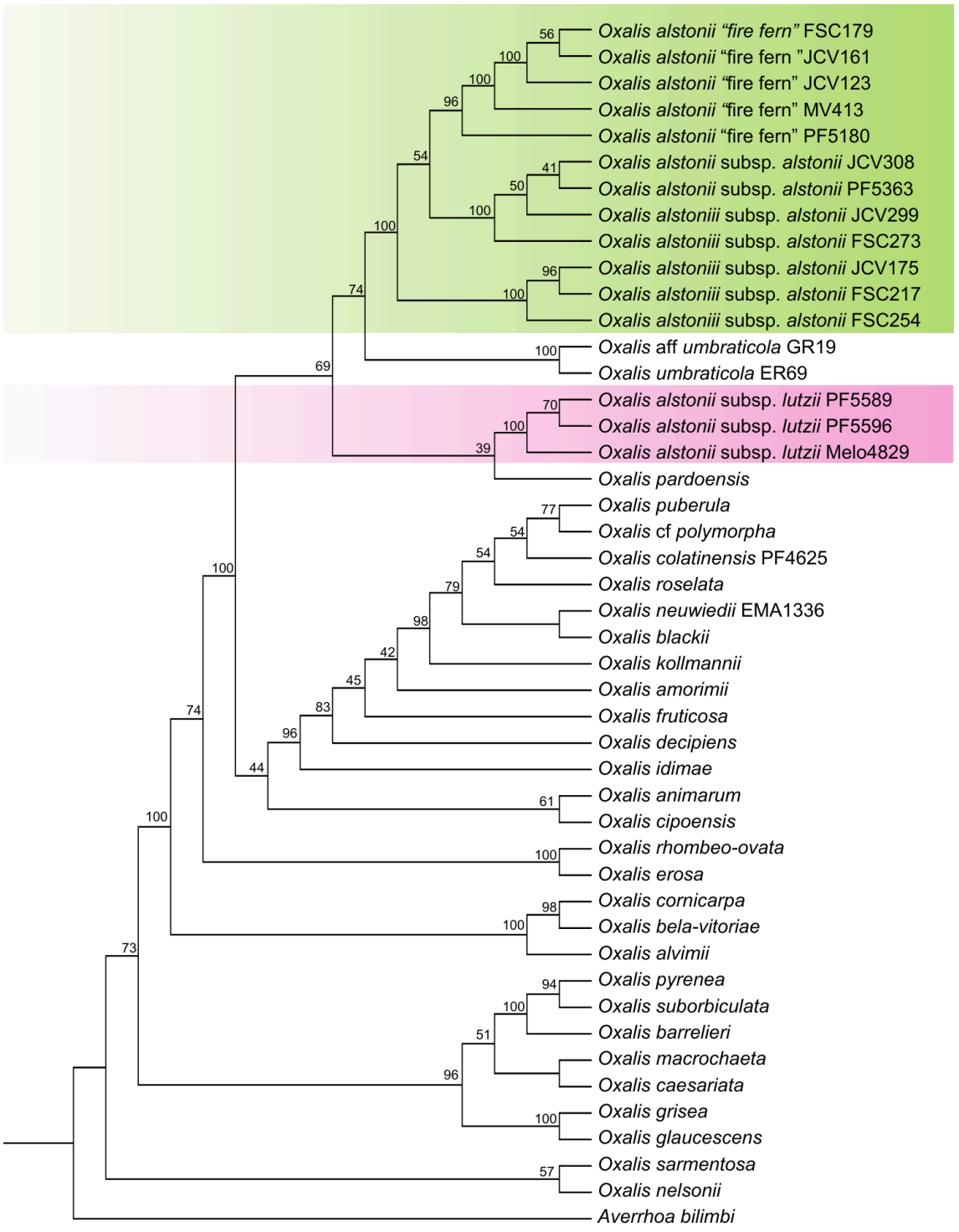
ZACHOS, F. E. (New) Species concepts, species delimitation and the inherent limitations of taxonomy. **Journal of Genetics**, v. 97, p. 811–815, 2018.

ZINK, R. M. The role of subspecies in obscuring avian biological diversity and misleading conservation policy. **Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences**, v. 271, n. 1539, p. 561–564, 2004.

ZUNTINI, A. R. et al. Phylogenomics and the rise of the angiosperms. **Nature**, v. 629, n. 8013, p. 843–850, 2024.

APÊNDICES

A. Árvore filogenética obtida por Máxima Verossimilhança baseada na matriz de nrITS



APÊNDICES

B. Árvore filogenética obtida por Máxima Verossimilhança baseada na matriz plastidial concatenada (*petA-psbJ* + *trnL-trnF).*

