A detailed botanical illustration of a flowering branch of Dyckia ibiramensis. The branch is reddish-brown and bears several small, yellow, tubular flowers. The illustration is positioned on the left side of the page, extending from the top towards the middle.

*Caracterização Reprodutiva de  
Dyckia ibiramensis* Reitz,  
uma bromélia endêmica do  
Alto Vale do Itajaí, SC

*KARINA VANESSA HMELJEVSKI*





UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL



CARACTERIZAÇÃO REPRODUTIVA DE *Dyckia ibiramensis*  
REITZ, UMA BROMÉLIA ENDÊMICA DO ALTO VALE DO  
ITAJAÍ, SC.

**KARINA VANESSA HMELJEVSKI**

ORIENTADOR: DR. ADEMIR REIS

CO-ORIENTADOR: DR. MAURÍCIO SEDREZ DOS REIS

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para obtenção do título em Mestre em Biologia Vegetal.

FLORIANÓPOLIS  
SANTA CATARINA – BRASIL  
2007

Hmeljevski, Karina Vanessa

Caracterização reprodutiva de *Dyckia ibiramensis* Reitz, uma bromélia endêmica do Alto Vale do Itajaí, SC./Florianópolis, 2007.

xi; f. 60; grafs, tabs, il.

Orientador: Dr. Ademir Reis

Co-orientador: Dr. Maurício Sedrez dos Reis

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas.

Bibliografia: f. 60.

1. Endemismo; 2. Interação planta-animal; 3. Auto-incompatibilidade parcial; 4. Taxa de cruzamento multilocos; 5. Bromeliaceae.

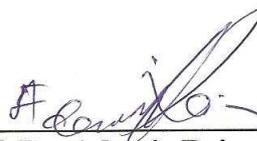
**CARACTERIZAÇÃO REPRODUTIVA DE *DYCKIA IBIRAMENSIS* REITZ,  
UMA BROMÉLIA ENDÊMICA DO ALTO VALE DO ITAJAÍ, SC**

**POR**

**KARINA VANESSA HMELJEVSKI**

**Dissertação julgada e aprovada, em sua  
forma final, pelo Orientador e membros  
da Comissão Examinadora.**

**Comissão Examinadora:**



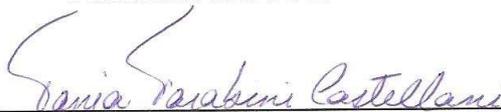
---

**Prof. Dr. Ademir Reis  
PPGBVE/CCB/UFSC**



---

**Prof. Dr. Nivaldo Peroni  
Fischeries and Food Institute**



---

**Prof. Dr. Tânia Tarabini Castellani  
PPGBVE/CCB/UFSC**



---

**Prof. Dr. Mauricio Sedrez dos Reis  
PPGBVE/CCB/UFSC**



---

**Prof. Dr. Maria Terezinha Silveira Paulilo  
Coordenadora**

Florianópolis, 05 de novembro de 2007.

*“Os bosques  
precedem  
aos povos,  
os desertos  
os seguem.”*

*Chateaubriand*

*À minha família*

## AGRADECIMENTOS

Ahhh... Enfim os agradecimentos...

Como de praxe, vou começar agradecendo ao Prof. Ademir Reis!  
Muito obrigada por mais essa oportunidade, por me proporcionar a possibilidade de tamanho crescimento pessoal e profissional que tive durante meu mestrado! Obrigada pela atenção, ensinamentos, convivência, disponibilidade, amizade...

Prof. Maurício Sedrez dos Reis! Obrigada pelos novos conhecimentos adquiridos!  
Sua cara de bravo assusta no começo, mas depois a gente se acostuma, hehehe!  
Brincadeirinhas à parte, gostei muito da nossa convivência! Você sabia que eu entrei na Biologia porque eu gostava muito de genética? É, o mundo dá voltas mesmo!

Obrigada minha família linda por vocês existirem! Obrigada mãe, pai, Vevê, Érikinha, Jorginho, Nicoleta, Mati, Qui, Ulisses! Fifi, Pitita, Lili e Lunica!  
Amo muito todos vocês!!!

Dudu lindo amoreco da minha vida! Namorado querido, futuro noivo, um dia marido (botando pressão, hehehe...), obrigada por fazer parte da minha vida!  
Sem você ela não seria tão boa!!!  
(Ô, que declaração hein?! A cada dia me surpreendo mais comigo mesma...)

Povo do Lab! Um beijão bem grandão pra todos vocês que direta ou indiretamente contribuíram com esse trabalho e, mais importante, com a minha formação pessoal! Um beijão especial pra Jú, Manu, Kurt e Cássio que me ajudaram muito no campo e no lab de genética! Valeu mesmo!!!  
Obrigada também galera do Núcleo por todas as ajudas!

Amigas queridas da Pós! Lulu, Flavinha, Deby, Fê! Obrigada pelos momentos de descontração! Não vou esquecer nunca da nossa semana em Corupá e nem da nossa bebedeira no congresso de Botânica, hahaha!!! Adoro muito vocês!

Não posso deixar de agradecer a mulherada do futeba!!! MUITÍSSÍSSÍSSIMO obrigada pelos ótimos momentos de relaxamento, prazer, diversão, pelas pernas roxas, pelas boladas, hehehe! Vocês não fazem idéia como eles foram, são e continuarão sendo muito importantes! Éta futebolzinho bom, né Narah?!

Agradeço ao Seu João Firmíno pela colaboração de nos deixar estudar as bromélias do "seu quintal"! E também à Floresta Nacional de Ibirama pela estadia sempre disponível quando íamos pra campo.

Muito obrigada ao Prof. Benedito Cortes Lopes pela identificação das formigas, à Anne Zillikens pela identificação das abelhas e ao Vítor Piacentini pela identificação do beija-flor. Muito obrigada também à querida Profa. Tânia Tarabini Castellani, pelo estágio de docência, palestras, conversas e amizade!  
Profa. Terezinha Paulilo obrigada pela paciência!!!

Professores Maurício Sedrez dos Reis, Nivaldo Peroni e Tânia Tarabini Castellani, obrigada por aceitarem participar da banca.

Agradeço à CAPES pela bolsa! Sem ela este estudo não seria o mesmo.  
E como faz falta essa danada...

E a todas as pessoas que por ventura não estejam aqui mencionadas, mas que de alguma forma contribuíram para que este trabalho (enfim) ficasse pronto, meu muitíssimo obrigada!!!

É isso aí! "Divirtam-se"!!!  
IRAAA!!!

## SUMÁRIO

RESUMO .....	x
ABSTRACT .....	xi
ARTIGO 1: Ecologia da polinização e seus efeitos no sistema reprodutivo de <i>Dyckia ibiramensis</i> Reitz (Bromeliaceae, Pitcairnioideae).....	1
1. Introdução .....	1
2. Materiais e Métodos .....	2
2.1. Área de estudo .....	2
2.2. Morfologia e Biologia Floral .....	4
2.3. Visitantes Florais .....	5
2.4. Sistema Reprodutivo.....	5
3. Resultados .....	7
3.1. Morfologia e Biologia Floral .....	7
3.2. Visitantes Florais .....	10
3.3. Sistema Reprodutivo.....	13
4. Discussão.....	14
5. Referências Bibliográficas .....	21
ARTIGO 2: Diversidade genética e sistema de cruzamento de <i>Dyckia ibiramensis</i> Reitz, uma bromélia endêmica e ameaçada de extinção.....	26
1. Introdução .....	26
2. Materiais e Métodos .....	27
2.1. Área de estudo e amostragem.....	27
2.2. Eletroforese de isoenzimas.....	30
2.3. Diversidade e estrutura genética .....	30
2.4. Sistema de cruzamento .....	31
3. Resultados .....	33
3.1. Diversidade e estrutura genética .....	33
3.2. Sistema de cruzamento .....	36
4. Discussão.....	41
5. Referências Bibliográficas .....	49
CONSIDERAÇÕES FINAIS: Implicações para conservação .....	55
Referências Bibliográficas .....	59

## RESUMO

*Dyckia ibiramensis* Reitz (Bromeliaceae) é uma espécie endêmica do município de Ibirama/SC, cuja distribuição se restringe a aproximadamente 4 km de extensão nas margens do Rio Itajaí do Norte. Desde 1992, consta na “Lista de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção” na categoria “Em perigo”, e no ano de 2005, no Workshop “Revisão da Lista da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção” foi incluída na categoria “ criticamente em perigo”. Neste contexto, o objetivo deste estudo foi elucidar o modo de reprodução de *D. ibiramensis*, empregando-se experimentos de polinização manual e análise genética, bem como seu sistema de polinização e sua diversidade e estrutura genética, visando obter informações que auxiliem na elaboração de estratégias de conservação para a espécie. *D. ibiramensis* possui inflorescências simples e ramificadas com, em média, 58 e 137 flores, respectivamente. Suas flores apresentam formato de sino, corola amarela e sépalas variando de verdes a alaranjadas, e eixo da inflorescência variando de verde até avermelhado. Ocorre a abertura de uma a três flores por dia por indivíduo. A antese se inicia em torno de 7h00 e as flores têm duração de um dia e meio. O volume de néctar acumulado é de 27,75  $\mu\text{L flor}^{-1}$ , com pico de produção no início da antese da flor, e a concentração de açúcares totais média é 22,38%. A mamangava *Xylocopa (Neoxylocopa) brasilianorum* juntamente com o beija-flor *Thalurania glaucopsis* são os principais polinizadores de *D. ibiramensis*. Os experimentos de sistema reprodutivo indicaram que a espécie possui auto-incompatibilidade, a julgar pela inviabilidade de sementes provenientes dos tratamentos de autopolinização (manual e espontânea) e agamospermia. As estimativas de diversidade e estrutura genética, obtidas a partir de progênies e empregando-se nove locos alozímicos, mostraram que *D. ibiramensis* possui alta diversidade gênica, baixa endogamia e forte estruturação. A grande quantidade de alelos muito raros e a detecção de alelos fixados sugerem fortes efeitos de deriva genética. As populações que se situam a montante no Rio Itajaí do Norte são as que apresentam maiores índices de variabilidade genética e, possivelmente, constituam o centro de diversidade genética da espécie. As estimativas de taxa de cruzamento multilocos atribuem à espécie sistema misto de reprodução, com predominância de cruzamentos. Somando-se este resultado ao obtido pelos experimentos de biologia reprodutiva, sugere-se que *D. ibiramensis* apresenta sistema de auto-incompatibilidade parcial. Muitos cruzamentos ocorrem entre rosetas próximas, implicando em cruzamentos biparentais e coeficientes de coancestria, em geral, maiores ou próximos aos esperados para irmãos-completos. A manutenção *in loco* de todas as populações existentes de *D. ibiramensis* é extremamente necessária para sua conservação em longo prazo, enquanto a conservação *ex situ* da espécie deve ser encarada apenas como uma forma complementar àquela *in situ*.

**PALAVRAS-CHAVE:** endemismo; interação planta-animal; auto-incompatibilidade parcial; taxa de cruzamento multilocos; Bromeliaceae.

## ABSTRACT

*Dyckia ibiramensis* Reitz (Bromeliaceae) is an endemic species from Ibirama/SC, whose distribution is limited to approximately 4 Km of extension on Itajaí do Norte river banks. Since 1992 it appears on the “List of Endangered Species of Flora” on the “Endangered” category. In 2005 at the Workshop “Revision of the List of Endangered Species of Flora” it was included on the “Critically Endangered” category. Thus, the objective of this study was to elucidate the mating system of *D. ibiramensis*, using manual pollination and genetic analysis technique, as well as its pollination system and genetic diversity and structure, in an attempt to obtain useful data to develop species’ conservation strategies. *D. ibiramensis* has simple and branched inflorescences with a mean of 58 and 137 flowers, respectively. Its flowers has a bell shape, yellow petals, green to orange-yellow sepals and inflorescence axis varying from green to reddish. Each plant opens one to three flowers per day. The anthesis starts around 7a.m. and the flowers remain opened for a day and a half. The accumulated nectar volume is 27.75  $\mu\text{L flower}^{-1}$ . The nectar’s production peak stars at anthesis and total sugar concentration mean is 22.38%. The bumblebee *Xylocopa* (*Neoxylocopa*) *brasilianorum* together with the hummingbird *Thalurania glaucopis* are the main species’ pollinators. The reproductive system experiments indicated that the species has self-incompatibility, emphasized by the non viable seeds produced by self-pollination (manual and spontaneous) treatments and agamospermy. The estimates of diversity and genetic structure obtained from progenies and through the analyses of nine allozyme loci, indicated that *D. ibiramensis* has high genetic diversity, low levels of inbreeding and strong genetic structure. The great amount of very rare alleles and the detection of fixed alleles suggests strong effects of genetic drift. The populations located upstream in Itajaí do Norte River revealed the highest levels of genetic variability and might, possibly, constitute the species’ center of genetic diversity. The estimates of multilocus outcrossing rate suggests a mixed mating system with the predominance of outcrossing. Adding these results to the ones obtained by the reproductive biology experiments, one suggests that *D. ibiramensis* has partial self-incompatibility system. Many of the crosses occur among close rosettes, implying in biparental crosses and coefficient of coancestry, in general, higher than or close to the expected for full-sibs. The maintenance *in loco* of all existing populations of *D. ibiramensis* is extremely necessary for its long term conservation, while *ex situ* conservation should be faced only as a complement of *in situ* conservation.

Key words: endemism; plant-animal interaction; partial self-incompatibility; multilocus outcrossing rate; Bromeliaceae.

## Artigo 1

### Ecologia da polinização e seus efeitos no sistema reprodutivo da reófito *Dyckia ibiramensis* Reitz (Bromeliaceae, Pitcairnioideae).

#### 1. Introdução

O padrão de polinização de uma determinada espécie depende da escala que esta percebe a paisagem, em função de sua capacidade de deslocamento, de suas exigências de habitats específicos e de suas interações com outras espécies (Metzger 2001). Logo, a associação entre o comportamento de forrageio do polinizador e a fenologia floral de uma espécie vegetal influencia diretamente na taxa de geitonogamia de um indivíduo, i.e., na polinização entre flores de uma mesma planta (Charpentier 2002; Goodwillie *et al.* 2005). A geitonogamia, por sua vez, aumenta o risco de depressão por endogamia em espécies autocompatíveis e em espécies com sistema de incompatibilidade pode provocar uma redução na formação de sementes devido à saturação do estigma com pólen inadequado e/ou aborto de óvulos autopolinizados (Charpentier 2002).

Em Bromeliaceae a ornitofilia é a síndrome de polinização mais freqüente (Kessler e Krömer 2000; Sazima *et al.* 2000; Kaehler *et al.* 2005; Siqueira-Filho e Machado 2006), também já tendo sido observadas outras síndromes, como a quiropterofilia (Sazima *et al.* 1995; Wendt *et al.* 2001), a melitofilia (Siqueira-Filho 1998; Wendt *et al.* 2001; Almeida *et al.* 2004) e a esfingofilia (Siqueira-Filho e Machado 2006 e suas referências), além de sistemas mistos de polinização (ver Kessler e Krömer 2000; Canela e Sazima 2005). Apesar da auto-incompatibilidade não ser comum em bromélias (Canela e Sazima 2003), estas são altamente dependentes de polinizadores, já que mesmo as espécies geneticamente autocompatíveis apresentam diferentes mecanismos florais, como a dicogamia e hercogamia, que evitam a ocorrência de autopolinização espontânea (Siqueira-Filho e Machado 2001; Wendt *et al.* 2001; Canela e Sazima 2003).

*Dyckia ibiramensis* Reitz é uma espécie endêmica e rara do Rio Itajaí do Norte (Rio Hercílio), no município de Ibirama/SC (Reitz 1962; Smith e Downs 1974; Reitz 1983), com distribuição restrita a aproximadamente 4 km às margens das corredeiras do rio (Reis *et al.* 2008). Apresenta propagação clonal e padrão de distribuição agrupado (Reis *et al.* 2005). Klein (1979; 1990) descreve a espécie como rupícola, heliófita e reófito. Os indivíduos localizam-se no Complexo Granulítico Santa Catarina, em litotipia gnaisse, sempre sobre deslocamentos e fraturas rochosas, onde há alguma umidade além da possibilidade de absorção iônica, assim como muito próximos às zonas de vaporização fluvial (Gustavo Ribas Curcio, comunicação pessoal 2006). Desde 1992, *D. ibiramensis* consta na Lista de

Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção (Portaria Federal nº 06-N, de 15 de janeiro de 1992) na categoria “Em perigo”, e no ano de 2005, no Workshop “Revisão da Lista da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção” (lista ainda não publicada) foi incluída na categoria “ criticamente em perigo” (Biodiversitas 2006), devido à previsões da construção de uma Pequena Central Hidrelétrica na sua área de ocorrência.

O presente estudo objetiva elucidar o modo de reprodução e os visitantes florais de *Dyckia ibiramensis* Reitz, discutindo os resultados à luz do comportamento dos prováveis polinizadores e sua influência no sistema reprodutivo da espécie.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Área de estudo**

O estudo foi realizado nas margens rochosas do Rio Itajaí do Norte (Rio Hercílio), município de Ibirama, Santa Catarina, na região do Alto Vale do Itajaí. Segundo classificação de Köppen, o clima do local é do tipo Cfa Subtropical, com temperatura média anual de 18-19 °C e precipitação média anual entre 1300-1500 mm, com chuvas constantes no verão (Collaço 2003). O município localiza-se na zona fisiográfica da Bacia do Sudeste de Santa Catarina, cujo rio mais importante é o Rio Itajaí-Açu, que tem como um de seus afluentes o Rio Itajaí do Norte (Prefeitura Municipal de Ibirama 2006). Estes rios têm como característica marcante a presença de corredeiras, o que propicia o desenvolvimento de uma vegetação exclusiva deste ambiente, conhecida como vegetação reofítica (van Steenis 1981; 1987). Espécies reófitas estão profundamente adaptadas a viverem em ambiente bastante adverso e variável, suportando fortes correntezas e habitat submerso em ocasiões de enchentes bem como períodos de estiagens e exposição ao sol durante as vazantes (Klein 1979). Na área do estudo, as espécies de reófitas mais freqüentes são os sarandis *Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg., *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg., *Calliandra selloi* (Spreng) Macbr. e *Calliandra tweedei* Benth (Klein 1980). Na figura 1 podem ser vistos os pontos de estudo ao longo do Rio Itajaí do Norte, situados à distância de, aproximadamente, 1 km entre si. Conforme levantamento demográfico de *D. ibiramensis* realizado em 2008 pelo Núcleo de Pesquisas em Florestas Tropicais (CCA/UFSC; dados não publicados), o ponto de estudo 1 (figura 2A) possui 2.241 rosetas, estando as touceiras distribuídas descontinuamente e de forma linear à margem do rio, abrangendo uma área de aproximadamente 5.200 m<sup>2</sup>. O ponto de estudo 2 (figura 2B) situava-se a jusante no rio, em grande afloramento rochoso bem exposto e com pouca vegetação, apresentando aproximadamente 3.357 rosetas distribuídas em aproximadamente 1.040 m<sup>2</sup> (Reis *et al.* 2008). Estes pontos concentram 76% do número total de rosetas da espécie.

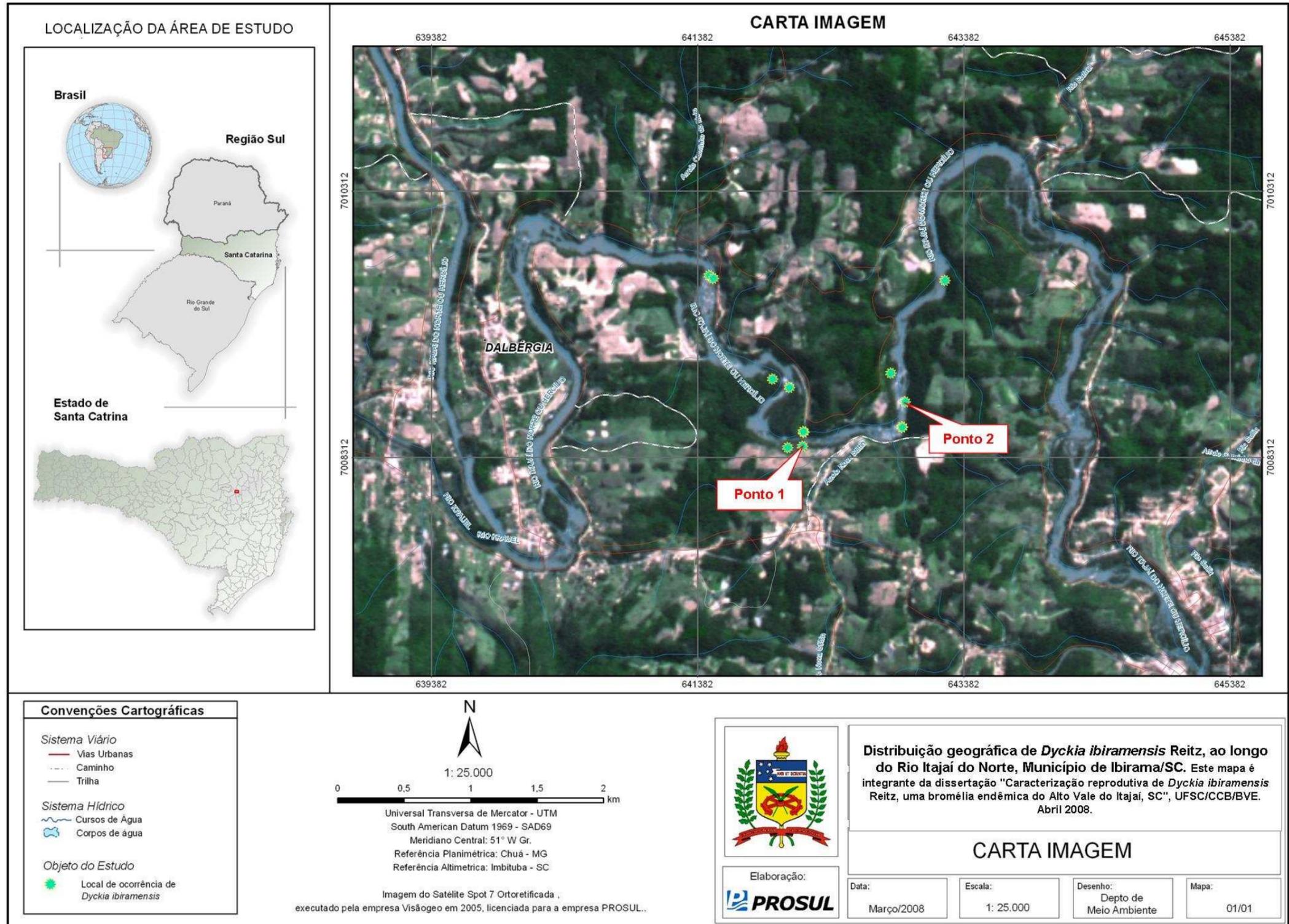


Figura 1. Distribuição geográfica de *Dyckia ibiramensis* Reitz, ao longo do Rio Itajaí do Norte, Município de Ibirama/SC, e localização dos pontos de estudo 1 e 2.



**Figura 2.** Vista dos pontos de estudo de *Dyckia ibiramensis* Reitz, no Município de Ibirama/SC. A. Ponto 1; B. Ponto 2.

## 2.2. Morfologia e Biologia Floral

A caracterização morfológica das flores de *D. ibiramensis* ( $n = 30$ ) foi realizada pelas medidas de comprimento do tubo e diâmetro de abertura da corola, comprimento de sépala, pétala, bráctea, altura do androceu (da base do filete ao ápice da antera) e gineceu (da base do ovário ao estigma), e número de óvulos total e por loco ( $n = 7$ ). Também foram realizadas contagens do número de sementes por loco por fruto ( $n = 18$ ) e número total de sementes por fruto ( $n = 35$ ), além de mensurações de comprimento da inflorescência ( $n = 30$ ). As medidas foram realizadas com paquímetro e fita métrica. Ilustrações das flores e estruturas florais foram feitas a partir de material fresco e preservado em FAA.

Durante a florada de outubro a dezembro de 2006, inflorescências foram observadas *in situ* para determinar o número de flores e frutos formados por inflorescência, o número de flores abertas por dia por indivíduo, horário e duração da antese da flor.

O volume total de néctar produzido foi medido com auxílio de micro-capilares Drumond de 5  $\mu\text{L}$  e a concentração de açúcares totais no néctar foi mensurada através de refratômetro portátil Bellingham & Stanley com escala de 0 a 50% °BRIX ( $n = 32$ ). As medições foram realizadas em flores previamente ensacadas, para evitar o contato com os visitantes florais, ao longo da antese da flor (um dia e meio) em intervalos de 3 horas no período diurno (9h00, 12h00, 15h00 e 18h00). A comparação do volume e concentração de

néctar produzido nos diversos horários amostrados foi feita através do cálculo do intervalo de confiança a 95%.

### **2.3. Visitantes Florais**

Observações naturalísticas dos visitantes florais foram realizadas em dezembro de 2006 (ponto de estudo 2, figura 1), ao longo de quatro manhãs e duas tardes, das 7h30 às 18h30, totalizando 30 horas de observação. Foram registrados a frequência e, principalmente, o comportamento dos visitantes às flores. Alguns visitantes foram capturados com auxílio de rede entomológica para posterior identificação. Também foi realizado registro fotográfico.

### **2.4. Sistema Reprodutivo**

O sistema reprodutivo foi verificado por tratamentos de polinização manual, realizados em campo (ponto de estudo 1, figura 1) no mês de novembro do ano de 2006, em flores de 20 indivíduos previamente ensacadas na fase de botão em sacolas de voal: 1) para a polinização cruzada manual, as flores foram emasculadas ainda em botão para, posteriormente, serem polinizadas com o pólen de flores de outros indivíduos; 2) no tratamento de autopolinização manual (autogamia) as flores também foram emasculadas em botão e depois polinizadas com o pólen da mesma flor; 3) para verificar a autopolinização espontânea, as flores foram ensacadas e não mais manipuladas; 4) no experimento de agamospermia as flores foram emasculadas em botão e também não mais manipuladas. Flores em condições naturais de polinização foram marcadas como controles. As flores manipuladas ficaram ensacadas até o final da floração para posterior verificação da formação de frutos (*fruit set*), o que ocorreu aproximadamente 30 dias após realização dos experimentos. Para verificar se o número de frutos formados nos tratamentos de polinização manual diferiu do número obtido em condições naturais foi aplicado o Teste Qui-quadrado de contingência ( $\chi^2$ ) (Sokal e Rohlf 1979). Paralelamente, em casa de vegetação, foi acompanhada a taxa de formação de frutos em um único indivíduo disponível, cujas flores não foram manipuladas nem ensacadas, ficando expostas à visitação, para verificar se a manipulação e ensacamento das flores poderiam interferir no resultado dos experimentos realizados em campo. Apesar da possibilidade de acesso de visitantes florais, os frutos formados neste indivíduo foram considerados provenientes de autopolinização e/ou agamospermia, já que a ocorrência de xenogamia estava descartada pela não existência de outros indivíduos floridos nos arredores. Sua taxa de formação de fruto também foi submetida ao teste qui-quadrado supracitado.

No Laboratório de Sementes Florestais (LASEF/UFSC) foram realizados testes de germinação das sementes oriundas dos tratamentos de polinização em germinador, com temperatura controlada de 25°C e sob fotoperíodo de 14 horas, já que as sementes de *D. ibiramensis* são fotoblásticas positivas (Eliziane C. Scariot e Manuela B. Wiesbauer, dados não publicados). O delineamento experimental foi de blocos inteiramente casualizados. Para as condições de polinização cruzada manual, autopolinização espontânea e polinização em condições naturais foram realizadas quatro repetições, considerando-se como uma unidade experimental cada grupo de 100 sementes. No tratamento de autopolinização manual foram realizadas também quatro repetições, sendo três delas constituídas por grupos de 100 sementes e uma com 65 sementes. Para o tratamento de agamosperma foram realizadas somente duas repetições, sendo uma delas composta por 100 sementes e a outra por 26 sementes. Estes tratamentos não tiveram o mesmo número total de sementes que os outros devido à baixa disponibilidade destas em virtude da pouca formação de frutos nestes experimentos. Também foram realizados testes de germinação com as sementes provenientes do indivíduo isolado em casa de vegetação, através de quatro repetições de 100 sementes. A avaliação foi realizada 15 dias após a montagem do experimento. Devido à não homogeneidade no número total de repetições e sementes utilizadas em cada tratamento, os resultados obtidos foram testados através de estatística não paramétrica de Kruskal-Wallis (Sokal e Rohlf 1979) seguida de teste de Dunn (Zar 1999).

O sistema reprodutivo também foi estimado através do cálculo da razão pólen/óvulo, conforme proposto por Cruden (1977). Para tanto foi realizada a quantificação dos grãos de pólen por antera através da retirada de anteras ( $n = 2$ ) de cinco flores de plantas distintas ensacadas na pré-antese e diluídas em tubos eppendorf com 500  $\mu\text{L}$  de ácido láctico a 85%. Quatro gotas de 1,5  $\mu\text{L}$  de cada amostra foram separadas em lâminas e observadas sob microscópio óptico com aumento de 100X (Kearns e Inouye 1993). O número de grãos de pólen por antera ( $N$ ) foi estimado conforme a fórmula de Petri (1976) adaptada por Silva-Souza *et al.* (2004),

$$N = X \left( \frac{500\mu\text{L}}{1,5\mu\text{L}} \right) \left( \frac{1}{2} \right)$$

onde  $X$  é a média de grãos de pólen. O número de grãos de pólen por flor foi estimado através da multiplicação do número médio de grãos de pólen por antera pelo número médio de anteras por flor (Silva-Souza *et al.* 2004). A razão pólen/óvulo foi determinada através da divisão do número médio de grãos de pólen por flor pelo número médio de óvulos por flor (Cruden 1977).

### 3. Resultados

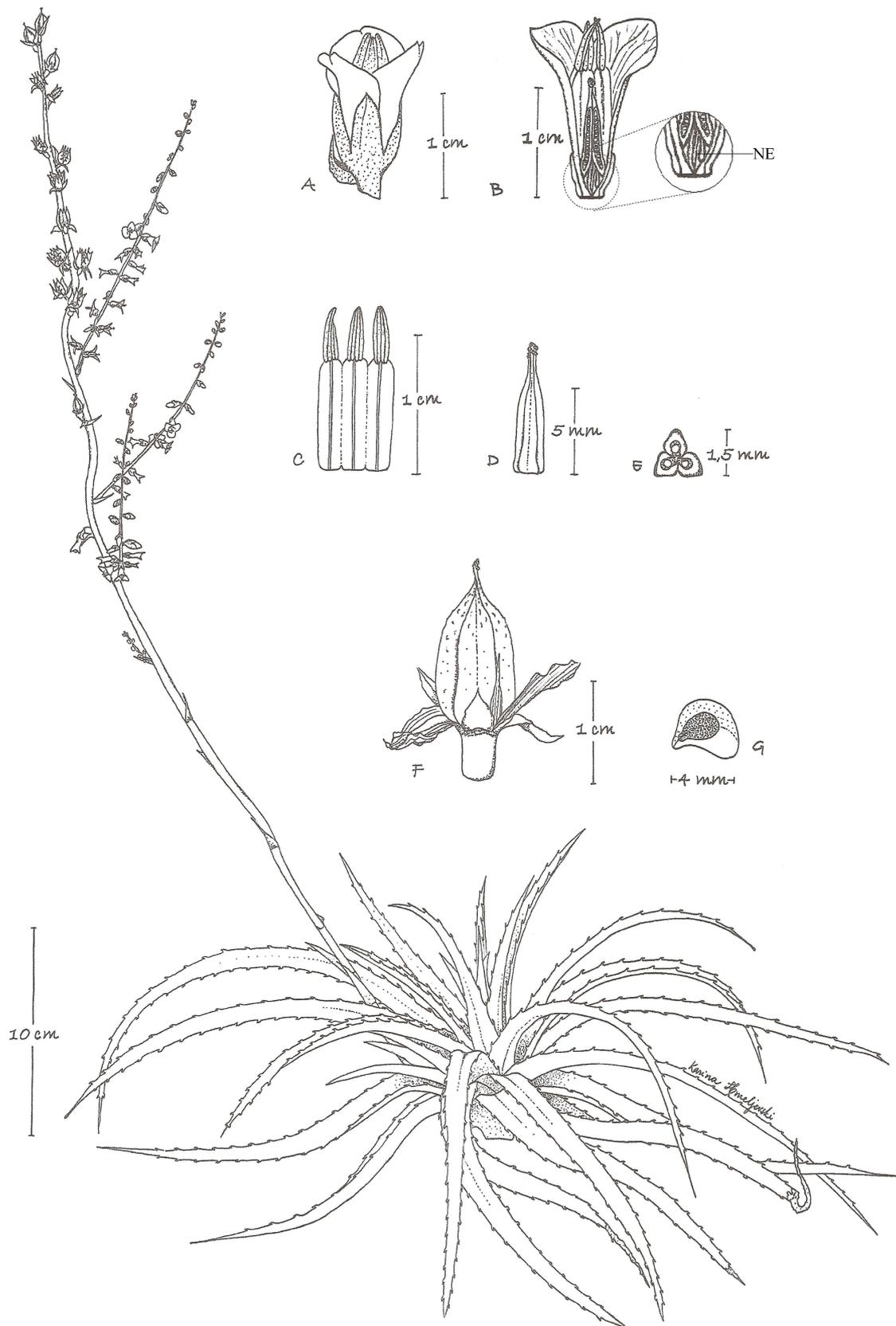
#### 3.1. Morfologia e Biologia Floral

*Dyckia ibiramensis* apresenta inflorescências ramificadas e simples, o que influencia diretamente no número de flores por indivíduo. Inflorescências ramificadas (número de ramificações variando de dois a sete mais eixo central da inflorescência;  $\bar{x} = 3,9$ ;  $s = \pm 1,7$ ;  $n = 10$ ) apresentam em média 137 flores (96 a 193 flores por inflorescência;  $s = \pm 29,7$ ;  $n = 10$ ). Inflorescências simples possuem em média 58 flores (28 a 95 flores por inflorescência;  $s = \pm 19,2$ ;  $n = 13$ ). As inflorescências são axiais e têm comprimento de 94,2 cm ( $s = \pm 29,0$ ;  $n = 30$ ). A abertura das flores ocorre no sentido da base para o ápice da inflorescência, sendo encontrados num mesmo indivíduo botões em vários estágios do desenvolvimento. Há bastante variação de coloração nas peças florais de *D. ibiramensis*. O eixo da inflorescência apresenta desde coloração verde até avermelhada ou marrom. Inflorescências com eixo floral verde geralmente apresentam sépalas também verdes e pétalas amarelas, sendo o aspecto geral da inflorescência muito semelhante à de *Dyckia brevifolia* (observação pessoal). Já as inflorescências com eixo avermelhado ou marrom apresentam sépalas mais alaranjadas e pétalas de amarelo intenso.

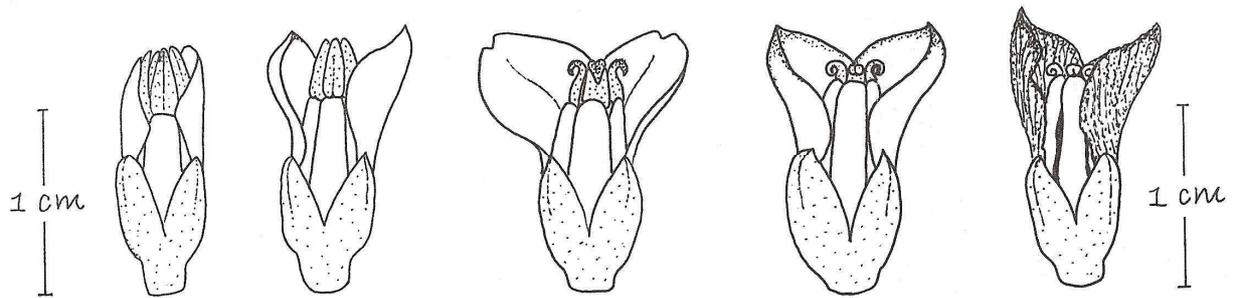
As flores são hermafroditas, em formato de sino, com comprimento do tubo da corola de 8,9 mm ( $s = \pm 0,7$ ;  $n = 30$ ) e diâmetro de abertura do tubo da flor de 4,5 mm ( $s = \pm 0,5$ ;  $n = 30$ ). As pétalas têm comprimento de 12,8 mm ( $s = \pm 1,0$ ;  $n = 30$ ) com disposição imbricada. As sépalas e brácteas apresentam 8,0 mm ( $s = \pm 0,6$ ;  $n = 30$ ) e 9,7 mm ( $s = \pm 2,1$ ;  $n = 30$ ), respectivamente. O androceu é composto por 6 estames, que possuem comprimento de 12,0 mm ( $s = \pm 1,2$ ;  $n = 30$ ), cujos filetes são conados. As anteras ficam acima do estigma. O gineceu tem 8,9 mm ( $s = \pm 0,9$ ;  $n = 30$ ) e é constituído por ovário súpero, tricarpelado, com total de 91,4 óvulos ( $s = \pm 22,0$ ;  $n = 7$ ), sendo 30,5 óvulos por loco ( $s = \pm 7,2$ ;  $n = 7$ ), e estigma do tipo conduplicado-espiral. Os frutos possuem 129,7 sementes ( $s = \pm 15,3$ ;  $n = 35$ ), sendo 43 sementes por loco ( $s = \pm 0,6$ ;  $n = 18$ ) (figura 3).

As sementes possuem morfologia indicativa de dispersão por anemocoria, mas a síndrome de dispersão hidrocórica parece ser viável, visto que as sementes também germinam quando submersas em água (observação pessoal).

Embora não tenha sido realizado acompanhamento fenológico mensal neste estudo, através de observações de campo foi possível verificar que a floração da espécie inicia ao final do mês de setembro estendendo-se até meados de janeiro, totalizando em torno de três meses e meio. Ocorre a abertura de uma a três flores por dia por indivíduo, o que influencia diretamente no tempo de maturação total de uma inflorescência, já que este é dependente do número de flores de cada inflorescência, que por sua vez, varia de acordo



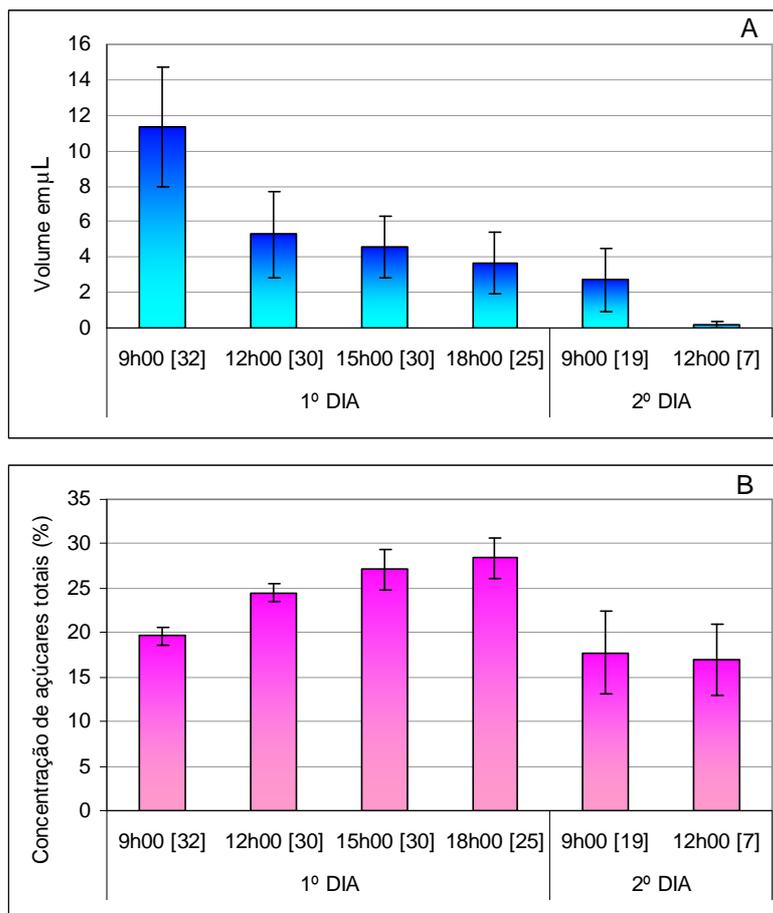
**Figura 3.** Aspecto geral de *Dyckia ibiramensis* Reitz em fase reprodutiva. A. Flor e bráctea floral; B. Corte longitudinal da flor, com detalhe do nectário floral (NE); C. Estames; D. Gineceu; E. Corte transversal do ovário; F. Fruto maduro; G. Semente.



**Figura 4.** Etapas de abertura da flor de *Dyckia ibiramensis* Reitz, durante sua antese. Primeira flor, da esquerda para direita, corresponde ao início da antese; última flor corresponde ao estágio de senescência.

com a quantidade de ramificações desta. A antese da flor se inicia por volta das 7h00 da manhã, porém não se restringindo a apenas este período do dia; foram observadas flores em antese até às 15h00. As flores não apresentaram odor perceptível. Estas têm duração de um dia e meio, estando completamente murchas e fechadas ao final do segundo dia (figura 4). O pólen já está disponível aos visitantes florais no início da antese, porém na metade do primeiro dia praticamente já não há mais pólen nas anteras. Estas vão se tornando reflexas (figura 4), deixando o estigma mais exposto, o que poderia facilitar o processo de deposição de pólen no estigma.

O néctar acumula-se na base do tubo formado pelos filetes conados e a maior produção ocorre no início da antese das flores, quando foi registrado o pico de volume ( $11,36 \pm 9,81 \mu\text{L}$ ;  $n = 32$ ). Após esse período, o volume foi decrescendo gradativamente, chegando a praticamente zero após um dia e meio de abertura da flor (figura 5A). Ao longo do primeiro dia o néctar foi ficando mais concentrado à medida que seu volume foi diminuindo. No segundo dia a concentração foi menor, podendo refletir a senescência da flor quanto à sua capacidade de produção de açúcares (figura 5B). Também se pode perceber que na primeira medição realizada no segundo dia, praticamente diminuiu pela metade o número de flores que ainda estavam produzindo néctar ( $n = 32$  para  $n = 19$ ; figura 5), o que reforça a idéia de que o maior investimento da flor neste recurso floral se concentra no primeiro dia. O volume de néctar acumulado, obtido pela soma das médias parciais, foi de  $27,75 \pm 3,74 \mu\text{L flor}^{-1}$  e a concentração de açúcares totais média foi  $22,38 \pm 4,91\%$ . Apesar de não ter sido quantificada, observou-se em campo uma abundante presença de néctar extrafloral em flores de *D. ibiramensis*, formando gotas na parte externa das sépalas, principalmente no início da manhã.

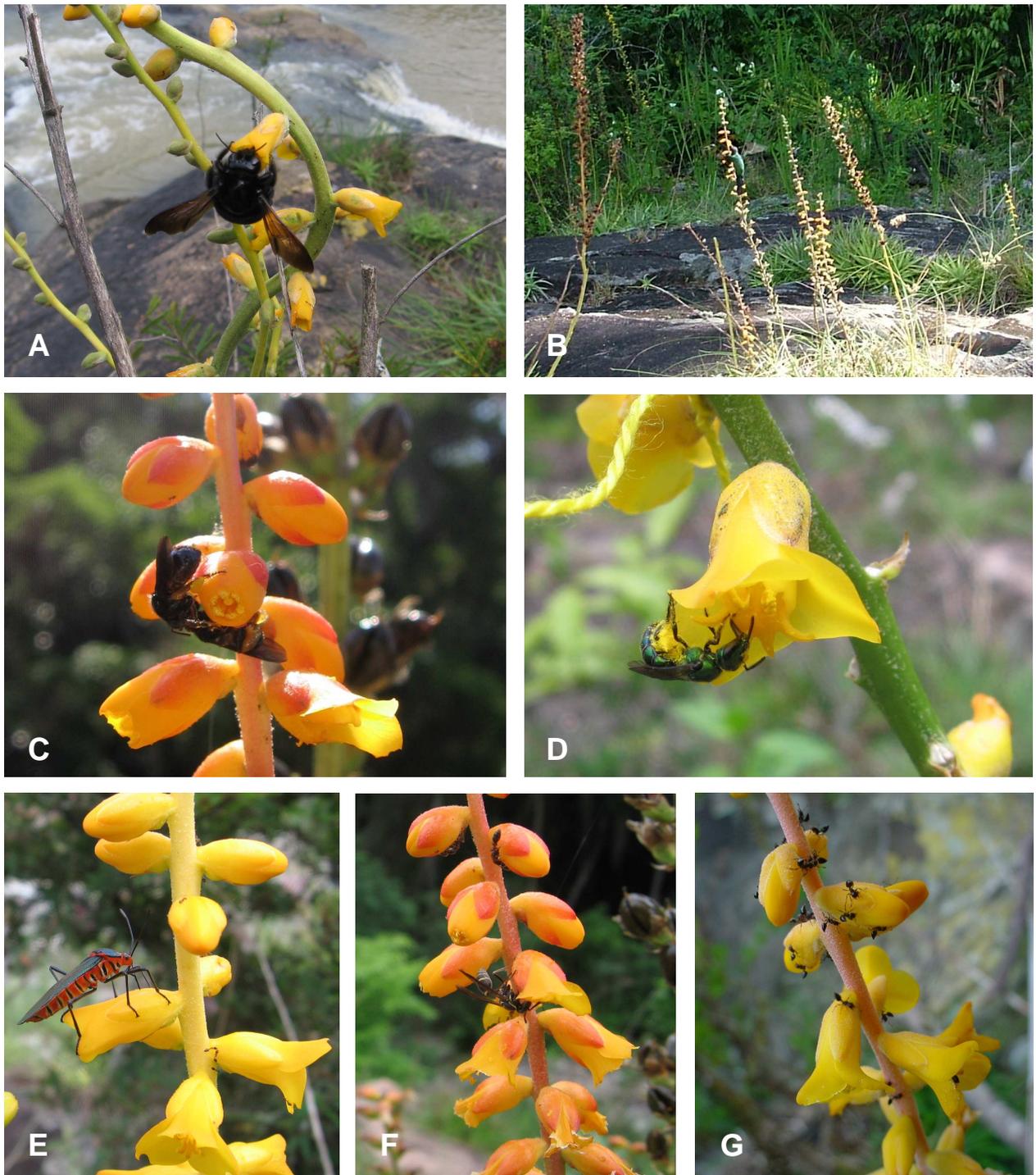


**Figura 5.** Produção de néctar em flores de *Dyckia ibiramensis* Reitz ao longo da antese da flor. A. Variação do volume de néctar ( $\mu\text{L}$ ). B. Variação na concentração de açúcares totais do néctar (%). As linhas verticais correspondem ao intervalo de confiança de 95% para as médias de cada grupo. As médias diferem significativamente entre si quando não há sobreposição dos intervalos de confiança. [ ]: número de flores que ainda continham néctar ao longo das medições.

### 3.2. Visitantes Florais

Foram observados em *D. ibiramensis* visitantes florais das ordens Hymenoptera, representada por abelhas (Apoidea), formigas (Formicidae) e vespas (Vespidae), Hemiptera, representada por percevejos (Coreidae), Lepidoptera, representada por borboletas, e Trochiliformes, representada por beija-flores (figura 6).

Foram identificadas quatro espécies distintas de abelhas, *Augochlorella* sp. (Halictidae, Augochlorini), *Dialictus* sp. (Halictidae, Halictini), *Trigona spinipes* (Fabricius) (Apidae, Apini) e *Xylocopa (Neoxylocopa) brasilianorum* (Linnaeus) (Apidae, Xylocopini), constituindo o grupo mais frequente em visitas de *D. ibiramensis*.



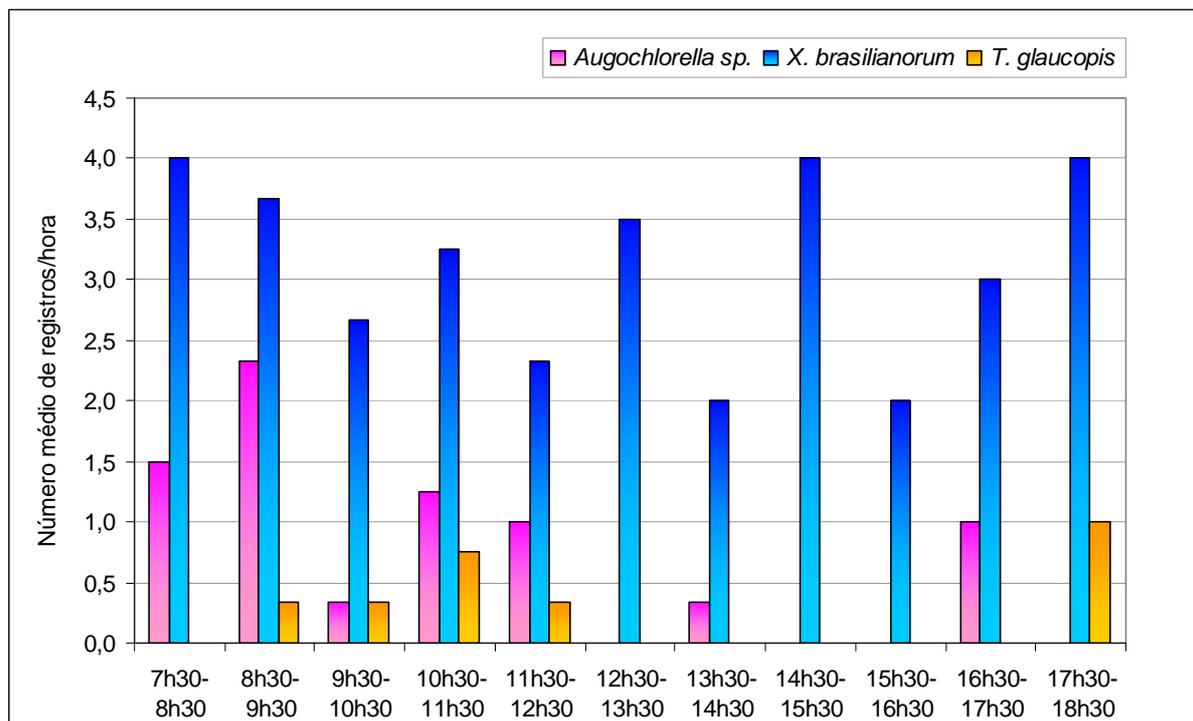
**Figura 6.** Visitantes florais de *Dyckia ibiramensis* Reitz. A. *Xylocopa* (*Neoxylocopa*) *brasilianorum*; B. *Thalurania glaucopis*; C. *Trigona spinipes*; D. *Augochlorella* sp.; E. Coreidae; F. Vespidae; G. Formicidae.

A espécie *Augochlorella* sp. visitava poucas flores por vez mas permanecia um maior tempo em cada uma delas. Coletava pólen em abundância, ficando com o abdômen e pernas repletos de grãos, eventualmente contatando o estigma da flor e ocasionando polinizações acidentais. Da mesma maneira, este contato também poderia ocorrer no momento em que os indivíduos adentravam o tubo da corola em busca de néctar. *Augochlorella* sp. foi registrada diariamente, em intervalos variáveis e mais freqüentemente no período matutino (figura 7). *Dialictus* sp. apresentou comportamento de forrageio semelhante ao da espécie supracitada, porém foi registrada apenas duas vezes e em um mesmo período vespertino de observação, sendo possivelmente um visitante ocasional.

*T. spinipes* apresentou forte comportamento pilhador, retirando pedaços das pétalas das flores, assim como cortando totalmente estigmas e anteras. Coletava pólen fartamente, inclusive de botões florais, onde fazia pequenos orifícios na ponta da corola, expondo as anteras ainda indeiscentes. Foi a espécie de abelha mais abundante durante as observações, permanecendo ao longo de todo o dia na área do estudo, e se deslocando entre poucas inflorescências muito próximas entre si. Apresentou comportamento agonístico com outras espécies de visitantes, principalmente com *X. brasilianorum*. Da mesma forma que *Augochlorella* sp. e *Dialictus* sp., *T. spinipes* também se alimenta de néctar e, apesar do comportamento pilhador, pode ocasionar polinizações acidentais.

*X. brasilianorum* realizou visitas legítimas às flores de *D. ibiramensis*, sendo provavelmente o principal polinizador da espécie. Aparecia em intervalos de 5 a 30 minutos entre as visitas ao longo de todo o dia (figura 7), não mais que dois indivíduos simultaneamente. Pousava sobre a corola, fixando-se a esta com as pernas e dobrando a parte ventral do corpo sobre si mesma, enquanto inseria a glossa no tubo da corola para coletar néctar, contatando anteras e estigmas. Realizava vôos em movimento espiral ao redor do eixo da inflorescência, visitando todas as flores abertas de uma mesma inflorescência para posterior deslocamento para outra. Passava por todas as inflorescências da área a cada aparecimento, movimentando-se por vôos curtos entre inflorescências próximas. Após as visitas, os indivíduos não permaneciam na área.

Machos e fêmeas do beija-flor *Thalurania glaucopis* Gmelin (Trochilidae) foram registrados visitando legitimamente três a cinco flores por inflorescência em busca de néctar. Apresentaram o mesmo comportamento de vôo de *X. brasilianorum*, realizando rápidos movimentos espiralados ao redor de uma mesma inflorescência, visitando um total de até dez inflorescências diferentes em cada aparecimento. Apesar de visitar um grande número de flores por registro, os beija-flores tiveram poucas aparições diárias durante os períodos de observação (figura 7).



**Figura 7.** Taxa média de visitas das abelhas *Xylocopa* (*Neoxylocopa*) *brasilianorum* e *Augochlorella* sp., e do beija-flor *Thalurania glaucopis* em flores de *Dyckia ibiramensis* Reitz. (n = 4 repetições para o período matutino e 2 para o período vespertino).

Duas espécies de borboletas (Lepidoptera) foram registradas em somente cinco ocasiões, visitando poucas flores. Elas pousam na flor, introduzindo a probóscide na corola para sugar o néctar, porém aparentemente sem tocar o estigma e as anteras.

As formigas *Pseudomyrmex* sp.1, *Pseudomyrmex* sp.2 e *Pseudomyrmex* sp.3 (Pseudomirmecinae), *Pheidole* sp. (Myrmicinae) e *Camponotus* aff. *sericeiventris* (Formicinae) realizaram patrulhamento nas inflorescências de *D. ibiramensis* à procura de néctar extrafloral, secretado nas sépalas. Indivíduos da espécie *Pheidole* sp. foram vistos no interior do tubo da corola, porém não foram considerados possíveis polinizadores pela escassa possibilidade de transferência de pólen devido ao seu reduzido tamanho corporal. Da mesma forma, vespas (Vespidae) foram observadas patrulhando as flores externamente, enquanto percevejos (Coreidae) foram avistados perfurando a base da corola, pilhando néctar floral.

### 3.3. Sistema Reprodutivo

*D. ibiramensis* apresentou formação de frutos em todos os tratamentos de polinização manual, mesmo que em taxas significativamente menores que a de polinização

**Tabela 1.** Taxas de formação de frutos e de germinação de sementes de *Dyckia ibiramensis* Reitz provenientes de experimentos de polinizações manuais, de polinização em condições naturais e em flores de indivíduo isolado em casa de vegetação. Valores seguidos por \* diferem significativamente da formação de frutos de polinização em condições naturais ( $\chi^2$ ,  $\alpha = 0,05$ ). Valores seguidos por letras minúsculas iguais não diferem significativamente entre si (teste de Dunn,  $\alpha = 0,05$ ).

Tratamentos	Frutos/Flores	Taxa de sucesso (%)	Sementes germinadas/ Total de sementes	Taxa de germinação (%)
Agamospermia	3/20	15*	3/126	2 a
Autopolinização manual	6/23	26*	3/365	1 a
Autopolinização espontânea	211/478	44*	0/400	0 a
Polinização cruzada manual	16/24	67*	297/400	74 b
Polinização em condições naturais	634/716	89	374/400	94 b
Polinização de indivíduo isolado em casa de vegetação (autopolinização)	14/17	82	0/400	0 a

em condições naturais (tabela 1), o que poderia sugerir que a espécie é autocompatível. Porém, as taxas de germinação respectivas foram significativamente diferentes ( $H = 18,98$ ;  $p = 0,0019$ ) e indicam que somente as sementes formadas através dos tratamentos de polinização cruzada manual e em condições naturais apresentaram significativa viabilidade (tabela 1). Portanto, os resultados sugerem que *D. ibiramensis* apresenta sistema de auto-incompatibilidade.

A razão pólen/óvulo encontrada para *D. ibiramensis* foi de 3588:1, enquadrando-a como xenogâmica facultativa.

Somente o indivíduo mantido isolado em casa de vegetação apresentou taxa de formação de fruto semelhante à de condições naturais (tabela 1), sugerindo que a manipulação das estruturas florais pode ter interferido numa menor produção de frutos nos tratamentos. De qualquer maneira, as sementes deste indivíduo também apresentaram inviabilidade.

#### 4. Discussão

*D. ibiramensis* apresenta morfologia e atributos florais que favorecem a polinização entomofílica, como coloração amarela das pétalas, corola em formato de sino com tubo não muito longo (Faegri e Pijl 1979) e abertura da corola não muito estreita, possibilitando a visita por insetos. Embora a presença de odor seja característica marcante de flores melitófilas, sua ausência já foi observada por Siqueira-Filho e Machado (2006) e em diferentes espécies de bromélias melitófilas da Mata Atlântica nordestina. O período de antese de cerca de um dia e meio, também observado em outras espécies do gênero *Dyckia* (Galletto e Bernardello 1992a; Guerra e Orth 2003; Rogalski 2007), provavelmente está associado com a textura carnosa da corola (Siqueira-Filho e Machado 2006). A morfologia conada dos filetes é típica de *Dyckia*, e provavelmente está relacionada às

características xéricas dos ambientes onde estas se encontram, já que ajudam a diminuir a evaporação do néctar na falta de apêndices petalares (Benzing 2000).

*Dyckias* apresentam inflorescência axial, atributo restrito a poucos taxos de Bromeliaceae (Benzing 2000). Esta característica confere às espécies padrão iteróparo, ou seja, permite que uma roseta sobreviva após evento reprodutivo, podendo reproduzir-se várias vezes ao longo do seu ciclo de vida, e, ainda, que a emissão de clones não seja dependente da reprodução.

A dispersão de sementes por anemocoria é relatada para quase todas as espécies de bromélia da subfamília Pitcairnioideae (Downs 1974). Já a hidrocoria parece não ser comum em Bromeliaceae, sendo sugerida para a reófito *Dyckia brevifolia* Baker por Rogalski (2007) e para *Pitcairnia aphelandriflora* Lem. e *Pepinia punicea* (Scheidw.) Brong. & André (Gross 1993 *apud* Benzing *et al.* 2000). Para estas duas últimas espécies, Benzing *et al.* (2000) salientam que tal informação ainda necessitaria ser melhor testada, mas, curiosamente, *P. punicea* também é classificada como uma bromélia reófito por van Steenis (1987).

A produção de néctar em *D. ibiramensis*, com base no volume de néctar acumulado ( $27,75 \pm 3,74 \mu\text{L flor}^{-1}$ ), pode ser classificada como intermediária. Na família Bromeliaceae o volume de néctar produzido varia enormemente conforme a espécie, tendo sido registrados volumes de  $2,75 \mu\text{L flor}^{-1}$  para *Tillandsia gardneri* Lindl. até  $646,5 \mu\text{L flor}^{-1}$  em *Vriesea tijucana* E. Pereira (Siqueira-Filho e Machado 2006). Em geral, bromélias cuja polinização é melitófilo secretam pequenos volumes de néctar (Siqueira-Filho 1998; Almeida *et al.* 2004; Siqueira-Filho e Machado 2006), embora também já tenham sido registradas espécies ornitófilas com semelhante característica. O inverso também é verdadeiro, sendo observadas visitas de abelhas em flores com alta produção de néctar (Nara e Webber 2002; Canela e Sazima 2005).

Ao contrário do atributo volume de néctar, a concentração de açúcares parece ter forte associação com o tipo de polinizador, ao menos para beija-flores. Segundo Baker (1975) e Pyke e Waser (1981), flores ornitófilas apresentam uma média de concentração de açúcares entre 21% e 25%, respectivamente, e embora maiores concentrações já tenham sido relatadas para espécies polinizadas por estas aves (Bernardello *et al.* 1991), concentrações mais baixas raramente são associadas a esta síndrome em Bromeliaceae (ver Siqueira-Filho e Machado 2006). Abelhas solitárias também dão preferência por flores com valores médios de concentração de néctar, semelhantes ao de beija-flores, em torno de 25% (Baker 1975). Desta forma, a concentração de açúcares totais média de *D. ibiramensis* ( $22,38 \pm 4,91\%$ ) favorece a visita de distintos visitantes florais.

Mesmo que as características volume e concentração do néctar não limitem a visita de determinados tipos de polinizadores a certas espécies de plantas, irão influenciar diretamente no comportamento dos visitantes. Para abelhas, Roubik (1989) observa que variações na disponibilidade e qualidade do néctar são mecanismos que podem encorajar o movimento entre plantas e a polinização cruzada, sendo a síndrome *trapline* associada a pequenas quantidades de recurso disponibilizados por flor ou agrupamento. Da mesma forma, para beija-flores Stiles (1975) descreve que comportamentos territorialistas são favorecidos quando há néctar em abundância e maiores concentrações, tornando viável o balanço entre a energia gasta para forrageio e defesa e a obtida pelo acesso exclusivo ao néctar.

A quantidade de recurso disponibilizada será relativa para cada visitante, tendo em vista que a escala de percepção de cada espécie, i.e., a escala espacial e temporal na qual uma espécie percebe ou interage com a paisagem, é variável (Metzger 2001). Em geral, polinizadores maiores necessitam de maior volume de néctar (Pyke e Waser 1981) para suas necessidades basais. Neste sentido, *D. ibiramensis* produz néctar em grande quantidade se forem considerados visitantes florais de pequeno e médio porte, como as abelhas, e moderado volume para visitantes de maior massa corporal, como beija-flores.

*D. ibiramensis* possui forte dependência de polinização por abelhas, como já relatado por Benzing *et al.* (2000) e Varadarajan e Brown (1988) para o gênero *Dyckia*, porém a espécie também recebeu visitas legítimas de beija-flores às suas flores, o que seria um indicativo de sistema misto de polinização. Modo de polinização muito semelhante já foi confirmado para *D. encholirioides* (Gaudichaud) Mez (Guerra e Orth 2003). Em *D. brevifolia* (Rogasliki 2007) e *Bromelia antiacantha* Bertoloni (Canela e Sazima 2005) também foi identificado sistema misto de polinização, porém nestas espécies beija-flores constituem-se os principais polinizadores.

*X. brasiliatorum* foi o principal polinizador de *D. ibiramensis*, devido à alta frequência de visitas e grande número de flores visitadas por aparecimento. Seu padrão de forrageio, caracterizado pela visita de várias flores de uma mesma inflorescência antes de se deslocar para outra, também foi descrito para esta mesma espécie em flores de *D. encholirioides* (Guerra e Orth 2003), assim como para *X. cearensis* em flores da lamiácea *Eriope blanchetii* (Benth.) Harley (Silva *et al.* 2007) e *Bombus morio* em *Bromelia antiacantha* (Canela e Sazima 2005). Em todas estas espécies de plantas as abelhas citadas foram consideradas potenciais polinizadoras, sugerindo que morfologias florais que possibilitem a obtenção do recurso procurado sem necessidade de danos à flor (comportamento pilhador) dispõem do benefício da polinização de muitas flores.

Por outro lado, este comportamento de forrageio tem como contrapartida a possibilidade de autopolinização por geitonogamia. Segundo Charpentier (2002), em plantas clonais a geitonogamia pode ser mais evidente já que pode ocorrer entre flores de um mesmo *ramet* (geitonogamia dentro do *ramet*) e entre flores de *ramets* diferentes (geitonogamia entre *ramets*). Outro fato relacionado ao crescimento clonal, é que este pode aumentar a densidade populacional de uma espécie permitindo a multiplicação de inflorescências numa dada área (Charpentier 2002), o que pode influenciar diretamente no comportamento dos polinizadores. De acordo com Richards (1997), plantas com alta densidade apresentam menor distância média de dispersão de pólen, pois a maior disponibilidade agrupada de recursos faz com que o polinizador diminua sua área de forrageio, deslocando-se mais entre *ramets* a curtas distâncias, e visitando mais flores por *ramets*, conseqüentemente aumentando a possibilidade de geitonogamia.

Portanto, mesmo que abelhas do gênero *Xylocopa* sejam capazes de realizar vôos a longas distâncias (Roubik 1989 e suas referências), seu comportamento de forrageio vai ser diretamente influenciado pela quantidade e qualidade dos recursos disponibilizados pela espécie vegetal. Janzen (1971) já chamava a atenção para este comportamento, descrevendo que abelhas euglossinas podem forragear a longas distâncias e estabelecerem rotas de alimentação promovendo polinização cruzada, desde que em populações com baixa densidade de indivíduos. No caso de *D. ibiramensis*, como a quantidade de néctar disponível por flor é relativamente alta para este polinizador, há uma forte tendência que a área de forrageio seja restrita.

Embora o aumento no número floral numa área possa incorrer num custo do *fitness* devido a altas taxas de geitonogamia, muitos estudos têm mostrado a importância deste fenômeno para a atração de polinizadores, aumentando assim as oportunidades de cruzamento (Charpentier 2002 e suas referências).

As espécies de abelhas *Augochorella* sp., *Dialictus* sp. e *T. spinipes* ocasionaram polinizações acidentais, sendo consideradas de participação secundária na polinização de flores de *D. ibiramensis*. Segundo Roubik (1989), abelhas com corpos grandes são potencialmente melhores polinizadores que abelhas pequenas. O comportamento destrutivo de *T. spinipes* às flores, e agonístico em relação à principalmente *X. brasilianorum*, foi igualmente citado para *D. encholirioides* (Guerra e Orth 2003) e por outros autores (Canela e Sazima 2005; Lenzi *et al.* 2006) e pode ser favorável na redução da geitonogamia, pois promove o deslocamento de *X. brasilianorum* entre plantas. A conduta de forrageio agressiva é comum no gênero *Trigona* e se deve ao fato de as trabalhadoras dessas abelhas, comparadas com outras Trigonini, possuírem dois ou três dentes mandibulares

apicais adicionais, usados para defender vigorosamente as flores de outros visitantes e para danificar plantas em busca de seiva e resinas, além de dissecar flores e anteras para remover pólen, despendendo longo tempo na coleta de recursos (Roubik 1989).

A polinização de diferentes espécies do gênero *Dyckia* por beija-flores já foi descrita por Bernardello *et al.* (1991) para *D. floribunda* Griseback, *D. velascana* Mez & Castellanos e *D. ragonesei* Castellanos, e também por outros autores para *D. tuberosa* (Vosgueritchian e Buzato 2006) e *D. brevifolia* (Rogalski 2007). Em *D. ibiramensis*, a forte coloração avermelhada do eixo floral e sépalas de alguns indivíduos pode ser a responsável pela atração de indivíduos de *T. glaucopis*, fenômeno já descrito para outras espécies de Bromeliaceae (Canela e Sazima 2003; 2005).

O comportamento de baixa frequência e irregularidade de visitação de *T. glaucopis* às flores de *D. ibiramensis* pode ser caracterizado como generalista (Feisenger e Colwell 1978), fato que estaria de acordo com a observação de que estes beija-flores não apresentaram comportamento territorialista durante forrageio. A morfologia floral de *D. ibiramensis* apropriada para insetos e néctar disponível em moderadas quantidades por flor, poderia estar favorecendo espécies de beija-flores de menor porte (Stiles 1975) como os Troquiliformes, além de comportamentos generalistas ou “*trapliners* facultativos” (Feisenger e Colwell 1978). Beija-flores que percorrem rondas alimentares transportam pólen entre flores de um maior número de indivíduos, distantes entre si (Sazima e Sazima 1995), favorecendo a ampliação de recombinações e manutenção de maior variabilidade genética.

Alguns beija-flores buscam néctar em flores que são polinizadas por outros animais, como abelhas, borboletas e morcegos, como observado para *Lymania smithii* Read, *Hohenbergia ramageana* Mez, *Cryptanthus diana*e Leme e *Aechmea patentissima* (Mart. Ex Schult. f.) Baker (Siqueira-Filho e Machado 2006), mesmo que não haja um ajuste entre o tamanho e o tipo da flor e o tamanho do bico do beija-flor (Sazima e Sazima 1995). O reduzido comprimento do tubo da corola de *D. ibiramensis* ( $8,9 \pm 0,7$  mm) permite a coleta de néctar por beija-flores de bico curto, como os troquilídeos (ver Feisenger e Colwell 1978; Kaehler *et al.* 2005 e suas referências), ocorrendo a deposição de pólen provavelmente no bico do animal, como já verificado para outras espécies de bromélias polinizadas por *T. glaucopis* (Kaehler *et al.* 2005; Machado e Semir 2006).

A não especificidade de um único polinizador é interessante para *D. ibiramensis*, pois diante de diferentes comportamentos de forrageio, a transferência de pólen entre indivíduos distintos pode ocorrer a curtas e longas distâncias. Sistemas de polinização generalistas implicam em maior resiliência às extinções locais (Kaehler *et al.* 2005) já que não dependem da regularidade de um único agente polinizador.

A ocorrência de insetos, como vespas e principalmente formigas, associada à presença de nectários extranupciais (Roubik 1989) já foi verificada em algumas bromeliáceas, com ênfase em espécies do gênero *Dyckia* (Galetto e Bernardello 1992b; Vosgueritchian e Buzato 2006). Em *D. floribunda*, Vesprini *et al.* (2003) constataram que indivíduos cujas formigas foram excluídas apresentaram redução no sucesso reprodutivo em comparação àqueles onde tais insetos permaneceram tendo acesso às plantas, fenômeno que os autores consideraram como indicador de um forte mutualismo entre formiga-planta, já que as formigas se beneficiavam com néctar extrafloral como recompensa. Ainda, segundo Benzing (2000), a presença de nectários extranupciais pode ajudar a distrair potenciais herbívoros e pilhadores de néctar.

Considerando que praticamente não houve germinação das sementes geradas através de autopolinização (manual e espontânea) e agamospermia, apesar de ter ocorrido formação de frutos e sementes, pode-se afirmar que *D. ibiramensis* possui mecanismos de auto-incompatibilidade. Tais resultados mostram a importância da realização de testes de germinação de sementes para verificação da viabilidade destas em distintos tratamentos de polinização manual que resultem na formação de frutos. Nestes casos, apenas a avaliação do *fruit set* ou *seed set* de uma espécie é uma forma arriscada e duvidosa de inferir sobre seu sistema reprodutivo. Ainda, muitas plantas apresentam o fenômeno da partenocarpia, inclusive bromélias (Lenzi *et al.* 2006), sendo este caracterizado não só pela produção de frutos sem sementes, mas também pela produção de sementes inviáveis (Zangerl *et al.* 1991), o que pode contribuir para interpretações errôneas.

De qualquer maneira, análises genéticas para verificação do sistema de reprodução de *D. ibiramensis*, realizadas a partir de progênies empregando-se marcadores isoenzimáticos (artigo 2), revelaram variação nas taxas de cruzamento individuais desta espécie, com predominância de altas taxas. Isto é indicativo de sistema misto de reprodução, com preferência por fertilização cruzada, mas tendo capacidade de autofertilização, o que implica em autocompatibilidade. Tais resultados antagônicos podem estar associados aos diferentes métodos utilizados para avaliar o sistema de reprodução (Souza *et al.* 2003), ou também à presença de variabilidade para auto-incompatibilidade na espécie.

A variação individual na expressão de sistemas de auto-incompatibilidade é comum (ver Lipow *et al.* 1999; Stephenson *et al.* 2000) e mesmo espécies com alto grau de incompatibilidade podem apresentar níveis variáveis de autofertilização (Levin 1996; Proctor *et al.* 1996), sendo esta uma forma de garantir a formação de sementes mesmo em frente a problemas como limitação de pólen ou uma menor atividade dos polinizadores (Leimu 2004;

Goodwillie *et al.* 2005). Como a auto-incompatibilidade é regulada por genes-S, é comumente vista como uma característica qualitativa do sistema reprodutivo, porém, Stephenson *et al.* (2000) ressaltam que freqüentemente a auto-incompatibilidade é uma característica quantitativa com plasticidade fenotípica influenciada pelas condições ambientais. Fatores não genéticos, como condições de temperatura e luminosidade, ou ainda, fatores fisiológicos da planta como a idade da flor, presença de frutos em desenvolvimento numa mesma inflorescência ou período final da floração podem afetar a expressão do sistema de auto-incompatibilidade (Levin 1996; Stephenson *et al.* 2000).

A categoria de sistema reprodutivo xenogâmico facultativo, na qual *D. ibiramensis* foi classificada de acordo com sua razão pólen/óvulo, também reforça a idéia de sistema misto de reprodução, já que Cruden (1977) deixa claro que nesta classe reprodutiva mesmo que a autofertilização possa ocorrer, as adaptações da flor favorecem a xenogamia, e a autofertilização ocorre na ausência ou em adição à fertilização cruzada.

Embora os resultados das distintas metodologias pareçam ser conflitantes, é interessante observar que, os experimentos de biologia reprodutiva foram realizados no ponto de estudo 1, que corresponde à população amostral 2 do artigo 2. Neste sentido, a população 2 foi a que apresentou a maior taxa de cruzamento multilocos ( $\hat{t}_m = 0,893$ ) nas análises genéticas, o que indica que esta se reproduz principalmente por cruzamentos entre indivíduos distintos geneticamente. Portanto, sob este ponto de vista, os resultados tornam-se menos contraditórios e evidenciam a hipótese de que *D. ibiramensis* apresenta auto-incompatibilidade parcial variável tanto no nível individual como populacional.

Diferentemente de espécies com auto-incompatibilidade parcial, em espécies autocompatíveis o sucesso reprodutivo através da autofertilização é semelhante ou até maior que de fertilização cruzada (Levin 1996), como é o caso de *D. brevifolia* (Rogalski 2007).

Sistema de auto-incompatibilidade parcial já foi sugerido para *B. antiacantha* (Canela e Sazima 2005) e, apesar de não comentado por Bianchi *et al.* (2000), também deve ocorrer em *Dyckia ferox* Mez, já que esta foi considerada auto-incompatível mesmo apresentando 17% de formação de frutos no tratamento de autopolinização manual.

Os resultados obtidos neste trabalho mostram a importância de serem utilizadas conjuntamente distintas metodologias que permitam inferir com maior confiabilidade sobre características como o sistema reprodutivo de uma espécie. Dessa forma, sugere-se que *D. ibiramensis* possui sistema de auto-incompatibilidade parcial, estando as freqüências de formação de sementes por cruzamentos ou por autofertilização relacionadas com o comportamento de forrageio dos polinizadores. Neste sentido, a alta formação de frutos em

condições naturais associada à alta viabilidade das sementes indica que os polinizadores de *D. ibiramensis* são eficientes na troca de pólen entre indivíduos, garantindo o sucesso reprodutivo da espécie.

## 5. Referências Bibliográficas

ALMEIDA, E. M.; STORNI, A.; RITTER, P. D. e ALVES, M. A. S. 2004. Floral visitors of *Tillandsia stricta* Sol. (Bromeliaceae) at Restinga of Jurubatiba, Macaé, Rio de Janeiro, Brazil. **Vidalia** 2(1): 30-35.

BAKER, H.G. 1975. Sugar concentrations in nectars from hummingbirds flowers. **Biotropica** 7(1): 37-41.

BENZING, D. H. 2000. **Profile of an adaptive radiation**. Cambridge University Press, Cambridge. 690p.

BENZING, D. H.; LUTHER, H. e BENNETT, B. 2000. Reproduction and life history. In: BENZING, D. H. **Profile of an adaptive radiation**. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 245-328.

BERNARDELLO, L. M.; GALETTO, L. e JULIANI, H. R. 1991. Floral nectar, nectary structure and pollinators in some Argentinean Bromeliaceae. **Annals of Botany** 67: 401-411.

BIANCHI, M. B.; GIBBS, P. E.; PRADO, D. E. e VESPRINI, J. L. 2000. Studies on the breeding systems of understory species of a Chaco woodland in NE Argentina. **Flora** 195: 339-348.

BIODIVERSITAS. 2006. Workshop “Revisão da Lista da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção”. Disponível em <[http://www.biodiversitas.org.br/cepf/listas\\_especies.asp](http://www.biodiversitas.org.br/cepf/listas_especies.asp)>. Acessado em 12 de julho de 2006.

CANELA, M. B. F. e SAZIMA, M. 2003. *Aechmea pectinata*: a hummingbird-dependent bromeliad with inconspicuous flowers from the rainforest in South-eastern Brazil. **Annals of Botany** 92:731-737.

CANELA, M. B. F. e SAZIMA, M. 2005. The pollination of *Bromelia antiacantha* (Bromeliaceae) in Southeastern Brazil: ornithophilous versus melittophilous features. **Plant Biology** 7(4): 411-416.

CHARPENTIER, A. 2002. Consequences of clonal growth for plant mating. **Evolutionary Ecology** 15: 521-530.

COLLAÇO, M. (coord. geral). 2003. **Ibirama: caracterização regional**. Secretaria do Estado de Desenvolvimento Regional, SDR.

CRUDEN, R. W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. **Evolution** 31: 32-46.

DOWNS, R. J. 1974. Anatomy and physiology. In: SMITH, L. B. e DOWNS, R. J. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph 14**(1): 2-28. Hafner Press, New York.

FAEGRI, K. e PIJL, L. van der. 1979. **The principles of pollination ecology**. 2nd ed. Pergamon Press, New York. 291p.

FEISENGER, P. e COLWELL, R. K. 1978. Community organization among neotropical nectar-feeding birds. **American Zoologist 18**: 779-795.

GALETTO, L. e BERNARDELLO, L. M. 1992a. Nectar secretion pattern and removal effects in six Argentinean Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Botanica Acta 105**: 292-299.

GALETTO, L. e BERNARDELLO, L. M. 1992b. Extrafloral nectaries that attract ants in Bromeliaceae: structure and nectar composition. **Canadian Journal of Botany 70**: 1101-1106.

GOODWILLIE, C.; KALISZ, S. e ECKERT, C. G. 2005. The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. **Annual Review of Ecology Evolution and Systematics 36**: 47-79.

GUERRA, T. M. e ORTH, A. I. 2003. Ecologia da polinização de *Dyckia encholirioides* var. *encholirioides* (Bromeliaceae, Pitcairnioideae), na ilha de Santa Catarina, SC. **Anais de Trabalhos Completos do VI Congresso de Ecologia do Brasil**. Fortaleza, CE: Universidade Federal do Ceará, v. 2. p. 376-378.

JANZEN, D. H. 1971. Euglossine bees as long-distance pollinators of tropical plants. **Science 171**: 203-205.

KAEHLER, M.; VARASSIN, I. G. e GOLDENBERG, R. 2005. Polinização em uma comunidade de bromélias em Floresta Atlântica Alto-montana no Estado do Paraná, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica 28**(2): 219-228.

KESSLER, M. e KRÖMER, T. 2000. Patterns and ecological correlates of pollination modes among bromeliad communities of Andean forests in Bolivia. **Plant Biology 2**: 659-669.

KLEIN, R.M. 1979. Reófitas no Estado de Santa Catarina. **Separata dos Anais da Sociedade Botânica do Brasil**. São Paulo, p. 159-169.

KLEIN, R. M. 1980. Ecologia da flora e vegetação do vale do Itajaí. **Sellowia 32**: 1-389.

KLEIN, R. M. 1990. **Espécies raras ou ameaçadas de extinção do Estado de Santa Catarina**. IBGE, Rio de Janeiro. v.1. 287 p.

KEARNS, C. A. e INOUE, D. W. 1993. **Techniques for pollination biologists**. University Press of Colorado, Colorado. 630 p.

LEIMU, R. 2004. Variation in the mating system of *Vincetoxicum hirundinaria* (Asclepiadaceae) in peripheral island populations. **Annals of Botany 93**: 107-113.

LENZI, M.; MATOS, J. Z. e ORTH, A. I. 2006. Variação morfológica e reprodutiva de *Aechmea lindenii* (E. Morren) Baker var. *lindenii* (Bromeliaceae). **Acta Botânica Brasileira 20**(2): 487-500.

- LEVIN, D. A. 1996. The evolutionary significance of pseudo-self-fertility. **The American Naturalist** **148**: 806-817.
- LIPOW, S. R.; BROYLES, S. B. e WYATT, R. 1999. Population differences in self-fertility in the "self-incompatible" milkweed *Asclepias exaltata* (Asclepiadaceae). **American Journal of Botany** **86**(8): 1114-1120.
- MACHADO, C. G. e SEMIR, J. 2006. Fenologia da floração e biologia floral de bromeliáceas ornitófilas de uma área da Mata Atlântica do Sudeste brasileiro. **Revista Brasileira de Botânica** **29**(1): 163-174.
- METZGER, J.P. 2001. O que é ecologia de paisagens? **Biota Neotropica** **1**: 1-9.
- NARA, A. K. e WEBBER, A. C. 2002. Biologia floral e polinização de *Aechmea beeriana* (Bromeliaceae) em vegetação de Baixo na Amazônia Central. **Acta Amazônica** **32**(4): 571-588.
- PREFEITURA MUNICIPAL DE IBIRAMA. 2006. Ibirama, cidade dos belos panoramas. Disponível em <<http://www.ibirama.sc.gov.br/principal.htm>>, acessado em 17 de julho de 2006.
- PROCTOR, M.; YEO, P. e LACK, A. 1996. **The natural history of pollination**. Timber Press, Oregon. 479p.
- PYKE, G. H. e WASER, N. M. 1981. The production of dilute nectars by hummingbird and honeyeater flowers. **Biotropica** **13**(4): 260-270.
- REIS, A.; ROGASKI, J. M.; BERKENBROCK, I. S. e VIEIRA, N. K. 2005. **Conservação de espécies reófitas de *Dyckia* no Sul do Brasil**. Relatório Parcial para Fundação Biodiversitas (Programa Espécies Ameaçadas). 28p.
- REIS, M.S.; HMELEJSKI, K.V.; BITTENCOURT, R.; FERREIRA, D. K.; FILLIPON, S.; MONTAGNA, T.; SILVA, F. A. L. da e DAROS, C. 2008. **Projeto de caracterização genética, demográfica e de aspectos da ecologia de *Dyckia ibiramensis* Reitz**. Relatório Final. 45p.
- REITZ, R. 1962. De Catharinensibus Bromeliaceis Novis. **Sellowia** **14**: 99-108.
- REITZ, R. 1983. **Bromeliáceas e a malária-bromélia endêmica**. Flora Ilustrada de Santa Catarina. Herbário Barbosa Rodrigues. 856p.
- RICHARDS, A. J. 1997. **Plant breeding systems**. George Allen & Unwin, London. 529p.
- ROGASKI, J. M. 2007. **Biologia da Conservação da reófito *Dyckia brevifolia* Baker (Bromeliaceae), Rio Itajaí-Açu, SC**. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- ROUBIK, D. W. 1989. **Ecology and natural history of tropical bees**. Cambridge Tropical Biology Series. Cambridge University Press, London.

- SAZIMA, I. e SAZIMA, M. 1995. Os beija-flores e suas flores. In: MORELLATO, P. C. e LEITÃO-FILHO, H. F. (orgs.). **Ecologia e preservação de uma floresta tropical urbana: Reserva de Santa Genebra**. Editora da Unicamp, Campinas. pp. 60-63.
- SAZIMA, M.; BUZATO, S. e SAZIMA, I. 1995. Polinização de *Vriesea* por morcegos no Sudeste brasileiro. **Bromélia** 2(4): 29-37.
- SILVA, F. O.; VIANA, B. F. e PIGOZZO, C. M. 2007. Floração, produção de néctar e abelhas visitantes de *Eriope blanchetii* (Lamiaceae) em dunas costeiras, Nordeste do Brasil. **Iheringia** 97(1): 87-95 (série zoológica).
- SIQUEIRA-FILHO, J. A. 1998. Biologia floral de *Hohenbergia ridley* (Baker) Mez. **Bromélia** 5:3-13.
- SIQUEIRA-FILHO, J. A. e MACHADO, I. C. S. 2001. Biologia reprodutiva de *Canistrum aurantiacum* E. Morren (Bromeliaceae) em remanescente da Floresta Atlântica, Nordeste do Brasil. **Acta Botânica Brasilica** 15(3): 427-443.
- SIQUEIRA-FILHO, J. A. e MACHADO, I. C. S. 2004. Síndromes de polinização de uma comunidade de Bromeliaceae e biologia floral de *Vriesea psittacina* (Hooker) Lindley (Bromeliaceae) em Brejo dos Cavalos, Caruaru, Pernambuco. In: PÔRTO, K. C.; CABRAL, J. J. P. e TABARELLI, M. (orgs.). **Brejos de altitude em Pernambuco e Paraíba: história natural, ecologia e conservação**. MMA (Série Biodiversidade 9), Brasília. pp. 277-284.
- SIQUEIRA-FILHO, J. A. e MACHADO, I. C. S. 2006. Floração e polinização das bromélias da Mata Atlântica nordestina. In: SIQUEIRA-FILHO, J. A. e LEME, E. M. C. **Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste; biodiversidade, conservação e suas bromélias**. Andrea Jakobsson Estúdio. Rio de Janeiro. pp. 159-189.
- SMITH, L. B. e DOWNS, R. J. 1974. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph** 14(1): 1-662. Hafner Press, New York.
- SILVA-SOUZA, D. A.; LENZI, M. e ORTH, A. I. 2004. Contribuição à ecologia de polinização de *Tabebuia pulcherrima* (Bignoniaceae) em área de restinga, no sul de Santa Catarina. **Biotemas** 17(2): 47-66.
- SOKAL, R. R. e ROHLF, F. J. 1979. **Biometria: principios y métodos estadísticos em la investigación biológica**. H. Blume Ediciones, Madrid. 832p.
- SOUZA, L. M. F. I.; KAGEYAMA, P. Y. e SEBBENN, A. M. 2003. Sistema de reprodução em população natural de *Chorisia speciosa* A. St.-Hil. (Bombacaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 26(1): 113-121.
- STEPHENSON, A. G.; GOOD, S. V. e VOGLER, D. W. 2000. Interrelationships among inbreeding depression, plasticity in the self-incompatibility system, and the breeding system of *Campanula rapunculoides* L. (Campanulaceae). **Annals of Botany** 85: 211-219.
- STILES, F. G. 1975. Ecology, flowering phenology, and hummingbird pollination of some Costa Rican *Heliconia* species. **Ecology** 56: 285-301.
- VAN STEENIS, C. G. C. J. 1981. **Rheophytes of the world: an account of the flood-resistant flowering plants and ferns and the theory of autonomous evolution**. Sijthoff & Noordhoff, Maryland. 407p.

VAN STEENIS, C. G. C. J. 1987. **Rheophytes of the world: supplement**. Allertonia 4(5): 267-330.

VARADARAJAN, G. S. e BROWN, K. 1988. Morphological variation of some floral features of the subfamily Pitcairnioideae (Bromeliaceae) and their significance in pollination biology. **Botanical Gazette** 149(1): 82-91.

VESPRINI, J. L.; GALETTO, L. e BERNARDELLO, G. 2003. The beneficial effect of ants on the reproductive success of *Dyckia floribunda* (Bromeliaceae), an extrafloral nectary plant. **Canadian Journal of Botany** 81: 24-27.

VOSGUERITCHIAN, S. B. e BUZATO, S. 2006. Reprodução sexuada de *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) e interação planta-animal. **Revista Brasileira de Botânica** 29(3): 433-442.

WENDT, T.; CANELA, M. B. F.; FARIA, A. P. G. de e RIOS, R. I. 2001. Reproductive biology and natural hybridization between two endemic species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). **American Journal of Botany** 88(10): 1760-1767.

ZANGERL, A. R.; BERENBAUM, M. R. e NITAO, J. K. 1991. Parthenocarpic fruits in wild parsnip: decoy defence against a specialist herbivore. **Evolutionary Ecology** 5: 136-145.

ZAR, J. H. 1999. **Biostatistical analysis**. 4<sup>th</sup> ed., Prentice Hall, Upper Saddle River.

## Artigo 2

### **Diversidade genética e sistema de cruzamento de *Dyckia ibiramensis* Reitz, uma bromélia endêmica e ameaçada de extinção.**

#### **1. Introdução**

Em populações pequenas, a deriva genética tem uma forte influência na estrutura genética (Barrett e Kohn 1991), visto que é capaz de provocar flutuações grandes e imprevistas nas frequências alélicas que, por sua vez, podem levar à diminuição da variabilidade dentro de populações e ao aumento da diferenciação entre populações (Ellstrand e Ellam 1993). Neste contexto, a caracterização da diversidade genética em populações naturais de espécies endêmicas e ou ameaçadas, além de permitir identificar quais processos evolutivos possam estar afetando essa diversidade genética, traz fundamentos importantes para a definição de estratégias e ações para proteção destas populações e reversão do quadro de risco de extinção (Reis *et al.* 2003). Devido a isso, nos últimos anos tem aumentado o número de estudos sobre a diversidade e estrutura genética de bromeliáceas, a maioria através de marcadores alozímicos (Soltis *et al.* 1987; Murawski e Hamrick 1990; Izquierdo e Piñero 2000; Sarthou *et al.* 2001; Alves *et al.* 2004; Gonzáles-Astorga *et al.* 2004; Rogalski 2007), mas também por outras técnicas, como AFLP (Sgorbati *et al.* 2004) e RAPD (Cavallari *et al.* 2006).

Um dos fatores mais diretamente associados aos níveis de diversidade genética e à distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações é o sistema de cruzamentos (Reis 1996), pois este determina o modo de transmissão de genes de uma geração para outra (Brown 1989). Além disso, a avaliação do sistema de cruzamento de uma espécie permite delinear estratégias de amostragem para a coleta de sementes visando a conservação *ex situ* de populações (Luca *et al.* 2002). Embora estejam disponíveis na literatura diversos trabalhos sobre esta temática, para a família Bromeliaceae encontram-se apenas o de Sgorbati *et al.* (2004), realizado em progênies de *Puya raimondii* Harms utilizando citometria de fluxo e marcadores RAPD, e de Rogalski (2007), com *Dyckia brevifolia* Baker empregando isoenzimas.

*Dyckia ibiramensis* Reitz (Bromeliaceae) é uma espécie endêmica do Rio Itajaí do Norte (Rio Hercílio), no município de Ibirama/SC (Reitz 1962; Smith e Downs 1974, Reitz 1983). Apresenta distribuição restrita a aproximadamente 4 km às margens das corredeiras do rio (Reis *et al.* 2008) sendo considerada uma espécie rara (Klein 1979). Possui flores hermafroditas e indícios de sistema de auto-incompatibilidade; seus polinizadores principais são a mamangava *Xylocopa (Neoxylocopa) brasilianorum* (Linnaeus) e o beija-flor

*Thalurania glaucopis* Gmelin; a dispersão de suas sementes pode ocorrer por anemocoria e hidrocoria; é uma espécie iterópara (artigo 1); apresenta crescimento clonal e padrão de distribuição agrupado, sendo poucos os indivíduos isolados (Reis *et al.* 2005). Ainda, Klein (1990) a descreve como rupícola, heliófita e reófito. O termo reófito (van Steenis 1981; 1987) designa espécies restritas ou exclusivas às corredeiras e às cascatas dos rios e dos riachos. Os indivíduos localizam-se no Complexo Granulítico Santa Catarina, em litotipia gnaisse, sempre sobre deslocamentos e fraturas rochosas, onde há alguma umidade além da possibilidade de absorção iônica, assim como muito próximos às zonas de vaporização fluvial (Gustavo Ribas Curcio, comunicação pessoal 2006). Desde 1992, *D. ibiramensis* consta na Lista de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção (Portaria Federal nº 06-N, de 15 de janeiro de 1992) na categoria "Em perigo", e no ano de 2005, no Workshop "Revisão da Lista da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção" (lista ainda não publicada) foi incluída na categoria "Criticamente em perigo" (Biodiversitas 2006), devido à previsões da construção de uma Pequena Central Hidrelétrica (PCH) na sua área de ocorrência.

No presente estudo, objetivou-se caracterizar a diversidade e a estrutura genética da espécie a partir de progênies e o sistema de cruzamento de *Dyckia ibiramensis* Reitz, empregando estimativas de coeficientes de coancestralidade e de taxa de cruzamento, sendo os resultados avaliados quanto à influência do sistema reprodutivo, comportamento dos polinizadores e dispersão de sementes na manutenção da diversidade genética das populações.

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Área de estudo e amostragem**

O estudo foi realizado no Município de Ibirama, Estado de Santa Catarina, na região do Alto Vale do Itajaí. Segundo classificação de Köppen, o clima é do tipo Cfa Subtropical, com temperatura média anual de 18-19 °C e precipitação média anual entre 1300-1500 mm, com chuvas constantes no verão (Collaço 2003). O município localiza-se na zona fisiográfica da Bacia do Sudeste de Santa Catarina, cujo rio mais importante é o Rio Itajaí-Açu, que tem como um de seus afluentes o Rio Itajaí do Norte (Rio Hercílio) (Prefeitura Municipal de Ibirama 2006).

Para caracterizar a taxa de cruzamento e a diversidade genética de progênies de *D. ibiramensis*, em janeiro de 2006 foi realizada a coleta de sementes de polinização livre de rosetas reprodutivas distribuídas em quatro populações amostrais ao longo do Rio Itajaí do Norte (figura 1). Foi considerada uma população amostral um conjunto de indivíduos isolado

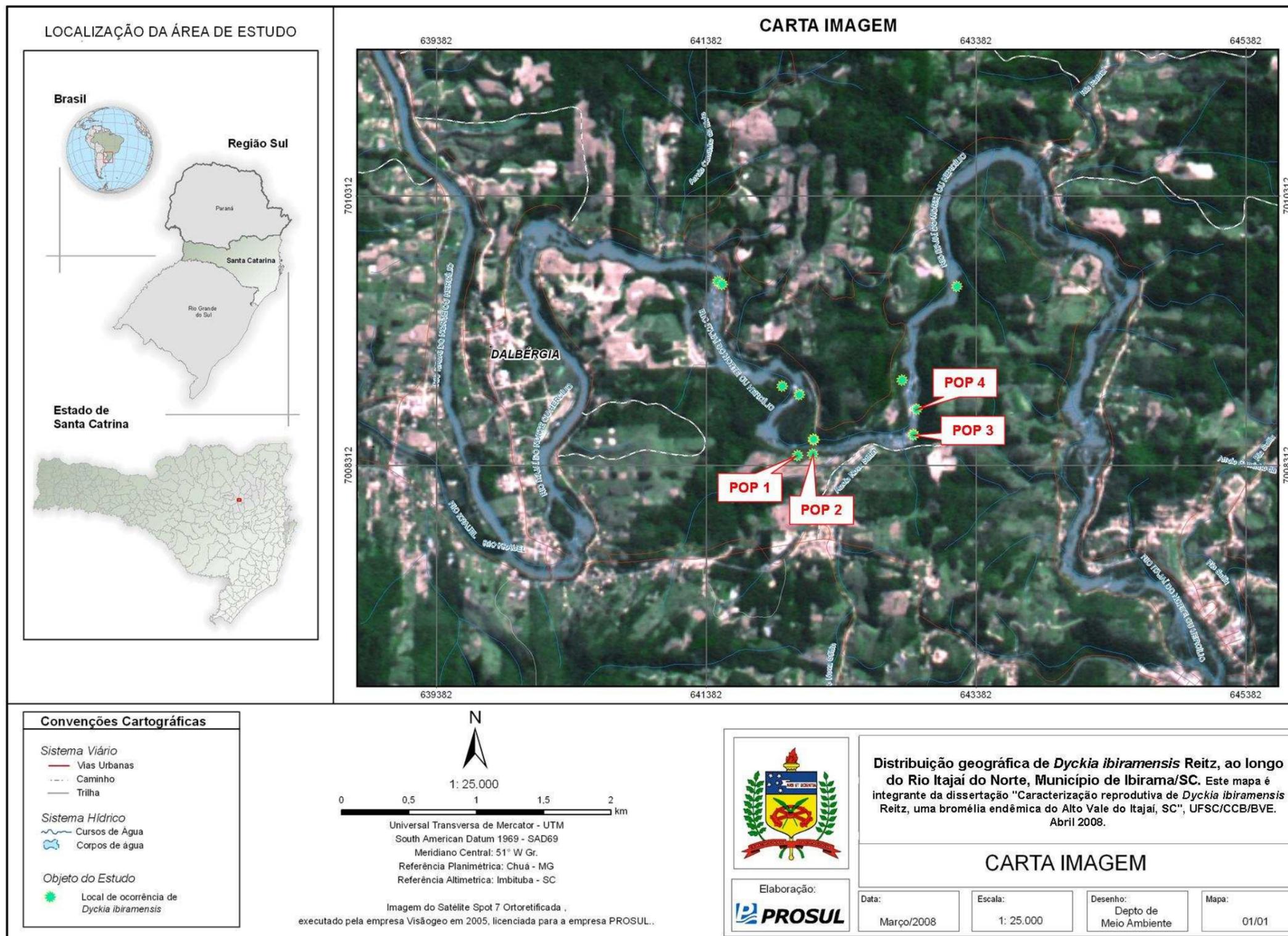


Figura 1. Distribuição geográfica de *Dyckia ibiramensis* Reitz, ao longo do Rio Itajaí do Norte, Município de Ibirama/SC, e localização das quatro populações amostradas no estudo.



**Figura 2.** Vista das populações de estudo de *Dyckia ibiramensis* Reitz, no Município de Ibirama/SC. A. População 1; B. População 2; C. População 3; D. População 4.

geograficamente por uma barreira física como água ou vegetação densa, o que não implicava isolamento de fluxo gênico. A população 1 localizava-se em agrupamentos rochosos no interior da margem do rio, não possuindo contato direto com este, salvo em épocas de grandes enchentes, e encontrava-se à 66 metros da população 2, estando isolada desta apenas por uma densa vegetação de sarandis (*Phyllanthus sellowianus* (Klotzsch) Müll. Arg. e *Sebastiania schottiana* (Müll. Arg.) Müll. Arg.) (figura 2A). A população 2 (figura 2B) formava um corredor na margem do rio, encontrando-se as touceiras muitas vezes rodeadas por vegetação, e ficava a uma distância de 842 metros da população 3. As populações 3 (figura 2C) e 4 (figura 2D) situavam-se a jusante no rio, estando 150 metros distantes entre si, em grandes afloramentos rochosos bem expostos e com pouca vegetação, estando separadas pelo rio. De acordo com levantamento demográfico de *D. ibiramensis* (Reis *et al.* 2008), as populações 2 e 4 são as que possuem o maior número de rosetas, em torno de 2.241 e 3.357, respectivamente, distribuídas em 5.134 m<sup>2</sup> e 1.040 m<sup>2</sup>, respectivamente. A população 1 possui aproximadamente 1.030 rosetas em 1.700 m<sup>2</sup> e a população 3.408 rosetas em 250 m<sup>2</sup>.

Foram coletadas sementes aleatoriamente de 23, 26, 20 e 30 rosetas nas populações 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Em casa de vegetação as sementes de cada progênie materna foram germinadas separadamente em embalagens retangulares de alumínio. O substrato utilizado foi vermiculita e matéria orgânica, na proporção 1:1. As plântulas foram regadas de 1 a 2 vezes por semana. Após um ano da semeadura realizou-se a amostragem de tecidos foliares de 23 a 26 plântulas por progênie e 10 progênies por população amostral, totalizando 40 progênies.

## 2.2. Eletroforese de isoenzimas

A caracterização genética dos indivíduos foi realizada por eletroforese de isoenzimas no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV) do Centro de Ciências Agrárias, UFSC/SC, conforme procedimentos de Alfenas *et al.* (1998) e Kephart (1990). Para a migração das enzimas, foi utilizada eletroforese horizontal conduzida em gel de amido (penetrose 30) a 13%. As enzimas foram extraídas dos tecidos foliares através da solução número 01 de Alfenas *et al.* (1998). Os sistemas-tampão gel/eletrodo usados foram Histidina (HIS) e Tris-Citrato (TC). Os sistemas enzimáticos revelados foram 6-Fosfogluconato Desidrogenase (loco *6pgdh* – E.C. 1.1.1.44), Enzima Málica (loco *Me* – E.C. 1.1.1.40) e Fosfogluose Isomerase (loco *Pgi* - E.C. 5.3.1.9) no tampão de eletrodo e gel HIS; Esterase Fluorescente (locos *Est2* e *Est3* – E.C. 3.1.1.1), Fosfoglucomutase (loco *Pgm* – E.C. 5.4.2.2), Malato Desidrogenase (loco *Mdh2* – E.C. 1.1.1.37) e Peroxidase (locos *Prx2* e *Prx3* – E.C. 1.11.1.7) no tampão eletrodo e gel TC. As receitas de revelação das isoenzimas foram baseadas em Alfenas (1998).

## 2.3. Diversidade e estrutura genética

Através da interpretação dos zimogramas foram estimadas as frequências alélicas com auxílio do programa BIOSYS-2 (Swofford e Selander 1997). A diversidade genética intrapopulacional das progênies foi caracterizada pela porcentagem de locos polimórficos ( $\hat{P}_{99\%}$ ), número médio de alelos por loco ( $\hat{A}$ ), heterozigosidade observada ( $\hat{H}_o$ ), diversidade gênica esperada segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $\hat{H}_e$ ) e índice de fixação ( $\hat{f}$ ). As estimativas foram calculadas pelo programa GDA (Lewis e Zaykin 2001), assim como os intervalos de confiança a 95% de probabilidade dos índices de fixação, obtidos por 10.000 reamostragens *bootstrap*. O número efetivo de alelos por locos foi calculado por  $\hat{A}_e = 1/(1 - \hat{H}_e)$ .

A estrutura genética das progênies foi avaliada através das estatísticas F (Weir e Cockerham 1984), a qual fornece a distribuição da diversidade genética nos níveis hierárquicos em que a amostragem foi estruturada. Foram utilizados três níveis de hierarquia: população, progênie e indivíduo. Os parâmetros estimados foram:  $\hat{f}$  = índice de fixação médio dentro das progênies,  $\hat{F}$  = índice de fixação para o conjunto de progênies e  $\hat{\theta}_p$  = divergência genética entre populações. Para testar se as estimativas médias de  $\hat{f}$ ,  $\hat{F}$  e  $\hat{\theta}_p$  eram diferentes de zero, estimou-se o intervalo de confiança a 95% de probabilidade, por reamostragem *bootstrap*, utilizando-se 10.000 repetições sobre locos. Uma matriz de divergência genética foi montada utilizando-se os coeficientes de divergência entre pares de populações ( $\hat{\theta}_p$ ). As análises de variância, os *bootstraps* e a matriz de divergência genética foram obtidos através do programa GDA (Lewis e Zaykin 2001). Posteriormente, foi realizada uma análise de agrupamento pelo método do encadeamento médio (UPGMA), segundo o programa PRIMER versão 5 (Clarke e Warwick 2001).

#### 2.4. Sistema de cruzamento

O sistema de cruzamento foi analisado com base nos modelos de reprodução mista (Ritland e Jain 1981) e cruzamentos correlacionados (Ritland 1989), com o auxílio do programa Multilocos MLTR versão 3.0 (Ritland 2002). Os parâmetros estimados foram: i) a taxa populacional de cruzamento multiloco ( $\hat{t}_m$ ) pelo método de máxima verossimilhança (*Expectation-Maximization*); ii) a taxa populacional de cruzamento uniloco ( $\hat{t}_s$ ); iii) a taxa de cruzamento entre aparentados ( $\hat{t}_m - \hat{t}_s$ ); iv) a taxa individual de cruzamento multiloco ( $\hat{t}$ ); v) as frequências alélicas dos óvulos e do pólen; vi) o índice de fixação das plantas maternas ( $\hat{F}_m$ ); vii) a correlação de autofecundação ( $\hat{r}_s$ ); viii) a correlação de autofecundação entre locos; xi) a correlação de paternidade ( $\hat{r}_p$ ). Os genótipos maternos foram estimados a partir das progênies, pelo método do parental materno mais provável. As pressuposições do modelo misto são dadas por Ritland e Jain (1981). O erro padrão das estimativas dos parâmetros foi obtido através de 1.000 reamostragens *bootstrap*, onde a unidade de amostragem foram as plantas dentro das progênies para ambas a taxa de cruzamento individual por progênie e para a taxa de cruzamento média das populações. A avaliação de cruzamentos aleatórios foi realizada pelo teste de homogeneidade entre as frequências alélicas dos óvulos e pólen calculando-se o estimador  $\hat{F}_{ST}$  (Nei 1977). A significância estatística de  $\hat{F}_{ST}$  foi obtida para cada loco pelo teste de qui-quadrado,  $\chi^2 = 2n \hat{F}_{ST} (k-1)$ , com

(k-1)(s-1) graus de liberdade, proposto por Workman e Niswander (1970), em que: n = número de indivíduos nos grupos, k = número de alelos e s = número de grupos (2 – pólen e óvulo). Combinando-se a taxa de cruzamento multiloco ( $\hat{t}_m$ ) com a correlação de paternidade ( $\hat{r}_p$ ), foi possível obter as proporções de irmãos-completos ( $\hat{t}_m \hat{r}_p$ ) e meio-irmãos [ $\hat{t}_m (1 - \hat{r}_p)$ ], enquanto a proporção de irmãos de autofecundação foi obtida por  $(1 - \hat{t}_m)$ , conforme Sebbenn (2002). O número médio de plantas doadoras de pólen foi calculado através da razão  $1/\hat{r}_p$  (Neto *et al.* 2005).

O coeficiente de coancestria ( $\hat{\theta}_{xy}$ ) entre plantas dentro de progênies foi estimado do coeficiente de correlação de parentesco ( $\hat{r}_{xy}$ ) entre plantas dentro de progênies, derivado por Ritland (1989) de parâmetros de sistema de reprodução, segundo qual  $\hat{r}_{xy} = 0,25(1 + \hat{F}_m)[4\hat{s} + (\hat{t}^2 + \hat{t}\hat{s}\hat{r}_s)(1 + \hat{r}_p)]$  em que,  $\hat{F}_m$  é o coeficiente de endogamia na geração parental e  $\hat{s}$  é a taxa de autofecundação ( $\hat{s} = 1 - \hat{t}_m$ ). Como em espécies diplóides, na ausência de endogamia, o coeficiente de parentesco ( $\hat{r}_{xy}$ ) é o dobro do coeficiente de coancestria ( $\hat{\theta}_{xy}$ ), tem-se que,  $\hat{\theta}_{xy} = \hat{r}_{xy} / 2$  e pode-se, portanto, obter o coeficiente de coancestria do coeficiente de parentesco (Sebbenn 2002). O tamanho efetivo de variância ( $\hat{N}_{e(v)}$ ) médio dentro de progênie foi estimado com base na variância amostral de um alelo, segundo derivações de Cockerham (1969),

$$\hat{N}_{e(v)} = \frac{0,5}{\hat{\theta}_{xy} \left( \frac{n-1}{n} \right) + \frac{1 + \hat{F}_p}{2n}}$$

em que n é o número total de progênies na população, assumido como infinito,  $\hat{F}_p$  é o coeficiente de endogamia do conjunto de progênies, utilizando uma população idealizada como referência, como descrito por Sebbenn (2002).

O número de plantas matrizes necessários para reter o tamanho efetivo de referência ( $\hat{N}_{e(\text{Referência})}$ ) foi calculado com base na expressão

$$\hat{m} = \hat{N}_{e(\text{Referência})} \left[ 2\hat{\theta} \left( \frac{n-1}{n} \right) + \frac{1 + \hat{F}_p}{n} \right]$$

(ver Sebbenn 2003), utilizando-se o tamanho efetivo de referência 100 para a coleta de sementes e a amostragem de 20 plantas por progênie (n).

### 3. Resultados

#### 3.1. Diversidade e estrutura genética

Noves locos foram analisados nos sete sistemas enzimáticos avaliados, onde sete foram polimórficos (*6pgdh*, *Est2*, *Est3*, *Mdh2*, *Me*, *Pgm*, *Prx3*) e os dois restantes monomórficos, segregando no máximo três alelos. As frequências alélicas (tabela 1) variaram de uma completa fixação, como no caso do alelo 1 nos locos *Pgi* e *Prx2* para todas as populações, à grande presença de alelos muito raros (frequência <1%), principalmente na população 3. No loco *Est3* o alelo 1 ocorreu apenas nas populações 3 e 4, da mesma forma que no loco *Mdh2* o alelo 2 apareceu somente nas populações 2 e 3, e em baixíssima frequência (0,002 e 0,004, respectivamente). Em geral, os alelos que possuíam maior ou menor frequência em um loco, em uma dada população, mantiveram-se semelhantes nas demais, com exceção dos locos *Me* e *Prx3* nas populações 3 e 4, e *6pgdh* na população 3, cujos alelos apresentaram variações em comparação às outras populações.

Os índices de diversidade (tabela 2) foram consideravelmente maiores nas populações 1 e 2 em comparação às populações 3 e 4. Somente o número de alelos por loco foi semelhante em todas as populações ( $\hat{A} = 2,00$ ). Contudo, o número efetivo de alelos por loco ( $\hat{A}_e$ ) foi muito menor, variando de 1,13 a 1,37, com média de 1,25, demonstrando que todas as populações tinha grande quantidade de alelos raros. As populações 1 e 2 apresentaram a maior porcentagem de locos polimórficos ( $\hat{P}_{99\%} = 77,8\%$ ), enquanto as populações 3 e 4 apresentaram os menores valores, 44,4% e 55,6% respectivamente. Em geral, a diversidade gênica ( $\hat{H}_e$ ) foi alta para todas as populações, assim como para a média entre as populações (0,203), salvo a população 3 que apresentou uma diversidade

**Tabela 1.** Estimativa das frequências alélicas para quatro populações amostrais de *Dyckia ibiramensis* Reitz, com dados obtidos a partir de progênies, empregando-se nove locos alozimicos.

Populações	Alelos	<i>6pgdh</i>	<i>Est2</i>	<i>Est3</i>	<i>Mdh2</i>	<i>Me</i>	<i>Pgi</i>	<i>Pgm</i>	<i>Prx2</i>	<i>Prx3</i>
1	n	253	259	256	260	258	260	260	260	260
	1	0,036	0,983	0,275	0,100	0,047	1,000	0,735	1,000	0,838
	2	0,557	0,017	0,725	0,000	0,331		0,265		0,162
	3	0,407			0,900	0,622				
2	n	250	256	254	255	256	256	256	256	254
	1	0,006*	0,977	0,055	0,310	0,002*	1,000	0,607	1,000	0,602
	2	0,682	0,023	0,945	0,002*	0,330		0,393		0,398
	3	0,312			0,688	0,668				
3	n	237	228	254	251	248	254	253	254	254
	1	0,002*	0,991	0,000	0,008*	0,065	1,000	0,919	1,000	0,004*
	2	0,152	0,009*	1,000	0,004*	0,508		0,081		0,996
	3	0,846			0,988	0,427				
4	n	240	241	245	245	243	245	245	245	244
	1	0,010*	0,917	0,000	0,004*	0,284	1,000	0,973	1,000	0,262
	2	0,729	0,083	1,000	0,000	0,584		0,027		0,738
	3	0,260			0,996	0,132				

n: tamanho da amostra; \* alelos muito raros (frequência <1%).

**Tabela 2.** Índices de diversidade intrapopulacionais para quatro populações amostrais de *Dyckia ibiramensis* Reitz, com dados obtidos a partir de progênies, empregando-se nove locos alozímicos. n: tamanho da amostra;  $\hat{P}_{99\%}$ : porcentagem de locos polimórficos;  $\hat{A}$ : número de alelos por loco;  $\hat{A}_e$ : número efetivo de alelos por loco;  $\hat{H}_o$ : heterozigosidade observada;  $\hat{H}_e$ : diversidade gênica;  $\hat{f}$ : índice de fixação.

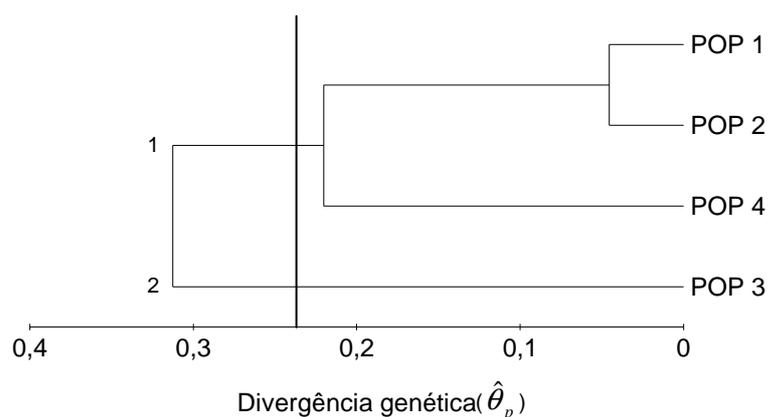
População	n	$\hat{P}_{99\%}$	$\hat{A}$	$\hat{A}_e$	$\hat{H}_o$	$\hat{H}_e$	$\hat{f}$
1	258,4	77,8	2,00	1,34	0,130	0,256	0,285 (0,087 a 0,545)
2	254,8	77,8	2,11	1,37	0,191	0,269	0,144 (-0,139 a 0,571)
3	248,2	44,4	2,00	1,13	0,036	0,113	0,594 (-0,107 a 0,945)
4	243,7	55,6	1,89	1,21	0,074	0,174	0,444 (-0,008 a 0,839)
<b>Média</b>	<b>251,28</b>	<b>63,9</b>	<b>2,00</b>	<b>1,25</b>	<b>0,108</b>	<b>0,203</b>	<b>0,367</b>
<b>Total</b>	<b>1005,11</b>	<b>77,8</b>	<b>2,11</b>	<b>1,34</b>	<b>0,108</b>	<b>0,256</b>	<b>0,310 (-0,039 a 0,661)</b>

( ) Intervalo de confiança a 95% de probabilidade, obtido por 10.000 reamostragens *bootstrap* sobre locos.

gênica relativamente baixa (0,113). Já a heterozigosidade observada ( $\hat{H}_o$ ) foi moderada a alta nas populações 1 (0,130) e 2 (0,191), porém muito baixa nas populações 3 (0,036) e 4 (0,074), valores que não atingiram nem a metade da heterozigosidade observada na população 2, que apresentou a maior estimativa. Apesar da população 3 ter apresentado os menores valores de diversidade gênica e heterozigosidade observada, foi a população com o menor número de alelos efetivos por loco, devido à elevada quantidade de alelos muito raros (tabela 1).

O índice de fixação detectado dentro de progênies ( $\hat{f}$ ) foi positivo e consideravelmente alto em todas as populações, variando de 0,144 a 0,594, embora significativamente diferente de zero apenas na população 1, de acordo com seu intervalo de confiança.

O índice de fixação médio dentro de populações foi  $\hat{f} = 0,310$  (-0,039 a 0,661), sendo considerado positivo e alto, porém não significativo, a julgar por seu intervalo de confiança. Isto está em consonância com os valores de  $\hat{f}$  negativos na maior parte dos locos (dados não mostrados) e sugerindo que a maioria dos locos dentro de populações está conforme as proporções esperadas de Hardy-Weinberg. Já o índice de fixação para o total das populações foi alto e significativamente diferente de zero ( $\hat{F} = 0,605$  (0,357 a 0,811)), possivelmente por diferenças no conjunto das populações referentes a efeitos de deriva e estruturação genética. A divergência genética entre populações foi alta e significativamente diferente de zero ( $\hat{\theta}_p = 0,237$  (0,129 a 0,367)), mostrando que 23,7% da variabilidade genética encontra-se entre populações e que 76,3% encontra-se dentro das populações.



**Figura 3.** Dendrograma obtido através do método UPGMA, com base na divergência genética ( $\hat{\theta}_p$ ) entre quatro populações amostrais de *Dyckia ibiramensis* Reitz, com dados obtidos a partir de progênies. Os dois grupos definidos pela divergência média entre as populações (0,237) estão indicados.

O dendrograma gerado a partir da matriz de divergência genética entre populações (figura 3) indica a formação de dois grupos, na divergência média entre as populações. O grupo 1 é formado pelas populações 1, 2 e 4, enquanto o grupo 2 pela população 3. As populações 1 e 2 formam um subgrupo dentro do grupo 1, e são as que apresentam a menor divergência genética entre si e a única não significativa, a julgar pelo intervalo de confiança (tabela 3). Apesar da população 4 pertencer ao grupo 1, esta apresenta uma alta divergência genética em relação às populações 1 e 2. A população 3, que constitui isoladamente o grupo 2, possui mais de 35% de divergência genética comparativamente ao grupo 1.

**Tabela 3.** Estimativas da divergência genética ( $\hat{\theta}_p$ ) entre pares de populações amostrais de *Dyckia ibiramensis* Reitz, geradas por análise variância com dados obtidos a partir de progênies, empregando-se nove locos alozímicos.

Loco	$\hat{\theta}_p$
1 x 2	0,045 (-0,007 a 0,105)
1 x 3	0,3619 (0,058 a 0,650)
1 x 4	0,2374 (0,086 a 0,384)
2 x 3	0,323 (0,122 a 0,480)
2 x 4	0,203 (0,084 a 0,280)
3 x 4	0,252 (0,040 a 0,444)

( ) Intervalo de confiança a 95% de probabilidade, obtido por 10.000 reamostragens *bootstrap* sobre locos.

### 3.2. Sistema de cruzamento

A divergência genética ( $\hat{F}_{ST}$ ) entre as frequências alélicas do pólen e óvulos (tabela 4) foi significativa para todos os locos, salvo *Prx3*, na população 1, e *Pgm*, na população 3, indicando que o conjunto de pólen que contribuiu para os cruzamentos não foi aleatório.

Os parâmetros do sistema de reprodução e as estimativas da taxa de cruzamento multiloco individual por planta materna encontram-se na tabela 5. A maior taxa de cruzamento multiloco ( $\hat{t}_m$ ) foi verificada na população 2 (0,893), seguida da população 3 (0,774), população 1 (0,650) e população 4 (0,563), resultados que atribuem à espécie sistema misto de reprodução. Pelos intervalos de confiança da estimativa da taxa  $\hat{t}_m$ , verifica-se que estas são significativamente diferentes da unidade (1,0). As estimativas da taxa de cruzamento multiloco individual por família ( $\hat{t}$ ) apresentaram valores variados (tabela 5), com maior ou menor predomínio de cruzamentos dependendo da população. Para estas estimativas assumiu-se que àquelas cujos valores foram maiores que 1,0 correspondiam à unidade, enquanto valores negativos correspondiam à zero. De modo geral, essas estimativas se concentraram em valores altos (figura 4), sendo aproximadamente 50% delas não diferentes da unidade, com base no erro padrão associado. As estimativas da taxa de cruzamento unilocos ( $\hat{t}_s$ ) foram altas e significativas, sendo superiores à taxa de cruzamento multilocos nas populações 1 e 2 (0,681 e 0,896) e inferiores nas populações 3 e 4 (0,760 e 0,561). A diferença entre as taxas de cruzamento multilocos e unilocos ( $\hat{t}_m - \hat{t}_s$ ) indicou a ausência de cruzamento entre aparentados (endogamia biparental) nas progênes de cruzamento das populações 1 e 2, já que nestas as taxas foram negativas, e a presença de 1,4% e 0,2% de cruzamentos entre parentes nas populações 3 e 4, valores extremamente baixos e, para população 4, não diferente de zero, a julgar pelo desvio padrão.

As estimativas da correlação de autofecundação ( $\hat{r}_s$ ) foram relativamente altas nas populações 1, 3 e 4 (0,336, 0,425 e 0,747) e baixa apenas na população 2 (0,091), sendo todas significativamente diferente de zero, reflexo da grande variação na taxa de cruzamento individual observada nas diferentes populações (ver tabela 5 e figura 4). As correlações de autofecundação entre locos foram altas e semelhantes em todas as populações (0,886 a 0,900), porém distintas da unidade, mostrando que uma fração da taxa de autofecundação é devida à endogamia biparental.

**Tabela 4.** Divergência genética ( $\hat{F}_{ST}$ ) entre as frequências alélicas do pólen e dos óvulos, graus de liberdade (GL) e teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para progênies de quatro populações de *Dyckia ibiramensis* Reitz.

Loco	Alelo	População 1						População 2					
		Pólen	Óvulo	n	$\hat{F}_{ST}$	GL	$\chi^2$	Pólen	Óvulo	n	$\hat{F}_{ST}$	GL	$\chi^2$
<i>6pgdh</i>	1	0,110 (0,024)	0,000 (0,000)	253	0,134	2	135,32*	0,013 (0,008)	0,000 (0,000)	250	0,017	2	16,83*
	2	0,529 (0,048)	0,550 (0,003)					0,671 (0,031)	0,650 (0,002)				
	3	0,361 (0,047)	0,450 (0,000)					0,315 (0,032)	0,350 (0,003)				
<i>Est2</i>	1	1,000 (0,000)	0,950 (0,000)	259	0,102	1	53,13*	0,973 (0,022)	0,950 (0,026)	255	0,014	1	7,29*
	2	0,000 (0,000)	0,050 (0,000)					0,027 (0,022)	0,050 (0,026)				
<i>Est3</i>	1	0,192 (0,041)	0,400 (0,002)	256	0,208	1	106,30*	0,033 (0,012)	0,150 (0,003)	253	0,165	1	83,33*
	2	0,808 (0,041)	0,600 (0,000)					0,967 (0,012)	0,850 (0,004)				
<i>Mdh2</i>	1	0,047 (0,019)	0,200 (0,008)	260	0,216	1	224,90*	0,341 (0,035)	0,300 (0,000)	254	0,016	2	15,92*
	2	—	—					0,004 (0,004)	0,000 (0,000)				
	3	0,953 (0,019)	0,800 (0,009)					0,655 (0,036)	0,700 (0,000)				
<i>Me</i>	1	0,018 (0,012)	0,150 (0,000)	258	0,265	2	273,22*	0,004 (0,004)	0,000 (0,000)	255	0,151	2	153,59*
	2	0,334 (0,031)	0,450 (0,000)					0,310 (0,028)	0,500 (0,000)				
	3	0,648 (0,029)	0,400 (0,002)					0,686 (0,028)	0,500 (0,000)				
<i>Pgi</i>	1	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	260	—	—	—	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	256	—	—	—
<i>Pgm</i>	1	0,762 (0,079)	0,650 (0,024)	260	0,060	1	31,43*	0,635 (0,065)	0,550 (0,023)	255	0,030	1	15,26*
	2	0,238 (0,079)	0,350 (0,024)					0,365 (0,065)	0,450 (0,023)				
<i>Prx2</i>	1	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	260	—	—	—	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	256	—	—	—
<i>Prx3</i>	1	0,765 (0,038)	0,800 (0,005)	260	0,007	1	3,74	0,728 (0,036)	0,500 (0,000)	253	0,219	1	110,99*
	2	0,235 (0,038)	0,200 (0,001)					0,272 (0,036)	0,500 (0,000)				

( ) erro padrão da média, obtido por 1.000 reamostragens *bootstrap*; n: tamanho amostral; GL: graus de liberdade; \* significativo a 1% de probabilidade.

**Tabela 4 (Continuação).** Divergência genética ( $\hat{F}_{ST}$ ) entre as frequências alélicas do pólen e dos óvulos, graus de liberdade (GL) e teste de qui-quadrado ( $\chi^2$ ) para progênies de quatro populações de *Dyckia ibiramensis* Reitz.

População 3								População 4					
Loco	Alelo	Pólen	Óvulo	n	$\hat{F}_{ST}$	GL	$\chi^2$	Pólen	Óvulo	n	$\hat{F}_{ST}$	GL	$\chi^2$
<i>6pgdh</i>	1	0,005 (0,005)	0,000 (0,000)	237	0,163	2	154,40*	0,037 (0,016)	0,000 (0,000)	240	0,518	2	497,73*
	2	0,133 (0,028)	0,300 (0,003)					0,846 (0,041)	0,550 (0,003)				
	3	0,861 (0,028)	0,700 (0,000)					0,117 (0,041)	0,450 (0,000)				
<i>Est2</i>	1	0,977 (0,011)	1,000 (0,000)	228	0,046	1	21,22*	0,930 (0,023)	0,850 (0,004)	241	0,065	1	31,51*
	2	0,023 (0,011)	0,000 (0,000)					0,070 (0,023)	0,150 (0,003)				
<i>Est3</i>	1	—	—	254	—	—	—	—	—	245	—	—	—
	2	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)					1,000 (0,000)	1,000 (0,000)				
<i>Mdh2</i>	1	0,021 (0,010)	0,000 (0,000)	251	0,085	2	85,12*	0,000 (0,000)	0,050 (0,000)	245	0,102	1	100,51*
	2	0,000 (0,000)	0,050 (0,000)					—	—				
	3	0,979 (0,010)	0,950 (0,000)					1,000 (0,000)	0,950 (0,000)				
<i>Me</i>	1	0,016 (0,011)	0,150 (0,000)	248	0,146	2	145,22*	0,274 (0,039)	0,300 (0,000)	243	0,331	2	322,24*
	2	0,517 (0,035)	0,500 (0,000)					0,726 (0,039)	0,500 (0,000)				
	3	0,466 (0,033)	0,350 (0,000)					0,000 (0,000)	0,200 (0,001)				
<i>Pgi</i>	1	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	254	—	—	—	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	245	—	—	—
<i>Pgm</i>	1	0,891 (0,043)	0,900 (0,026)	253	0,001	1	0,44	0,905 (0,024)	1,000 (0,000)	245	0,199	1	97,74*
	2	0,109 (0,043)	0,100 (0,027)					0,095 (0,024)	0,000 (0,000)				
<i>Prx2</i>	1	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	254	—	—	—	1,000 (0,000)	1,000 (0,000)	245	—	—	—
<i>Prx3</i>	1	0,010 (0,007)	0,000 (0,000)	254	0,020	1	10,21*	0,214 (0,043)	0,350 (0,000)	244	0,091	1	44,58*
	2	0,990 (0,007)	1,000 (0,000)					0,786 (0,043)	0,650 (0,000)				

( ) erro padrão da média, obtido por 1.000 reamostragens *bootstrap*; n: tamanho amostral; GL: graus de liberdade; \* significativo a 1% de probabilidade.

**Tabela 5.** Estimativa da taxa de cruzamento multilocos individual por planta materna ( $\hat{t}$ ) e parâmetros do sistema de reprodução em quatro populações amostrais de *Dyckia ibiramensis* Reitz.

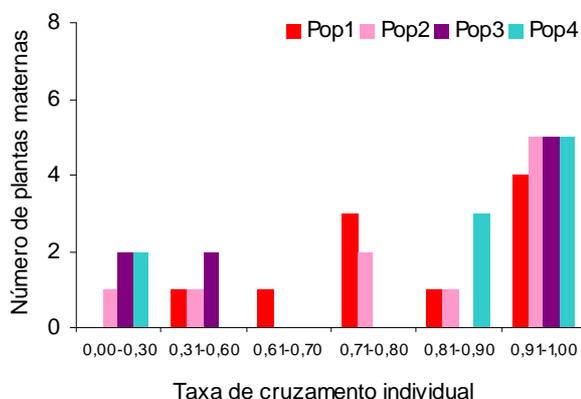
Taxa de Cruzamento	Populações			
	1	2	3	4
Progênie 1	0,895 (0,105) <sup>a</sup> – [26] <sup>b</sup>	0,730 (0,093) – [26]	2,026 (0,424) – [26]	-0,329 (0,411) – [23]
Progênie 2	0,662 (0,117) – [26]	0,600 (0,161) – [26]	2,040 (0,391) – [24]	1,157 (0,177) – [26]
Progênie 3	0,989 (0,025) – [26]	0,287 (0,337) – [26]	0,150 (0,322) – [26]	0,838 (0,198) – [26]
Progênie 4	0,345 (0,374) – [26]	0,717 (0,250) – [26]	1,065 (0,198) – [26]	0,817 (0,120) – [26]
Progênie 5	0,722 (0,153) – [26]	1,617 (0,229) – [24]	0,450 (0,276) – [26]	0,813 (0,205) – [26]
Progênie 6	0,712 (0,121) – [26]	1,064 (0,006) – [26]	1,285 (0,619) – [26]	-1,435 (0,540) – [23]
Progênie 7	0,929 (0,176) – [26]	0,912 (0,128) – [26]	– [26]	0,913 (0,076) – [23]
Progênie 8	0,920 (0,058) – [26]	0,984 (0,045) – [24]	1,075 (0,273) – [24]	1,062 (0,111) – [23]
Progênie 9	1,024 (0,033) – [26]	0,923 (0,113) – [26]	0,305 (0,302) – [26]	1,221 (0,161) – [26]
Progênie 10	0,781 (0,077) – [26]	1,074 (0,177) – [26]	0,380 (0,267) – [24]	1,155 (0,140) – [23]
Entre não aparentados + aparentados ( $\hat{t}_m$ )	0,650 (0,545 a 0,749) <sup>c</sup>	0,893 (0,821 a 0,948)	0,774 (0,661 a 0,866)	0,563 (0,485 a 0,636)
Entre não aparentados ( $\hat{t}_s$ )	0,681 (0,576 a 0,748)	0,896 (0,815 a 0,940)	0,760 (0,631 a 0,817)	0,561 (0,498 a 0,634)
Entre aparentados ( $\hat{t}_m - \hat{t}_s$ )	-0,031 (0,025) <sup>d</sup>	-0,003 (0,015)	0,014 (0,018)	0,002 (0,015)
Correlação de autofecundação ( $\hat{f}_s$ )	0,336 (0,223 a 0,584)	0,091 (0,033 a 0,185)	0,425 (0,396 a 0,815)	0,747 (0,569 a 0,954)
Correlação de autofecundação entre locos	0,886 (0,853 a 0,882)	0,900 (0,894 a 0,904)	0,896 (0,883 a 0,899)	0,891 (0,875 a 0,889)
Correlação de paternidade ( $\hat{f}_p$ )	0,758 (0,600 a 0,903)	0,326 (0,222 a 0,451)	0,470 (0,312 a 0,607)	0,316 (0,167 a 0,410)
Nº médio de plantas doadoras de pólen ( $1/\hat{f}_p$ )	1,3	3,1	2,1	3,2
Proporção de irmãos de autofecundação ( $1 - \hat{t}_m$ )	35,0%	10,7%	22,6%	43,7%
Proporção de meios-irmãos [ $\hat{t}_m (1 - \hat{f}_p)$ ]	15,7%	60,2%	41,0%	38,5%
Proporção de irmãos-completos ( $\hat{t}_m \hat{f}_p$ )	48,3%	29,1%	36,4%	17,8%
Coancestria dentro de progênies ( $\hat{\rho}_{xy}$ )	0,561	0,187	0,237	0,301
Tamanho efetivo de variância ( $\hat{N}_{e(v)}$ )	0,891	2,674	2,110	1,660
Número de matrizes para reter o $\hat{N}_e = 100 (\hat{m})$	112	41	51	63

a - erro padrão da média; b - tamanho amostral; c - intervalo de confiança; d - desvio padrão; a, c e d - obtidos por 1.000 reamostragens *bootstrap*.

As estimativas de correlação de paternidade ( $\hat{r}_p$ ) foram altas e significativamente diferentes de zero em todas as populações, variando de 0,316 a 0,758, indicando cruzamentos biparentais e, conseqüentemente, que grande parte das progênies originada de cruzamentos são irmãos-completos. Estes resultados estão de acordo com o número médio de plantas que contribuíram para a polinização em cada população, que variou de apenas 1,3 a 3,2 (tabela 5). Altas correlações de paternidade implicam que grande parte das progênies são aparentadas no grau de irmãos completos. Para *D. ibiramensis* a proporção de irmãos completos ( $\hat{t}_m \hat{r}_p$ ) teve seu menor valor na população 4 (17,8%), seguido da população 2 (29,1%) e população 3 (36,4%), sendo que na população 1 quase metade das progênies analisadas (48,3%) foram geradas por cruzamentos biparentais. A população 2 foi a que apresentou a maior porcentagem de progênies oriundas de cruzamentos aleatórios [ $\hat{t}_m (1 - \hat{r}_p)$ ], em torno de 60,2%, enquanto a população 1 foi a que apresentou o menor valor, apenas 15,7% de progênies aparentadas no grau de meio-irmãos. Os valores de progênies geradas por autofecundação ( $1 - \hat{t}_m$ ) variaram bastante entre populações, sendo a menor porcentagem registrada para a população 2 (10,7%) e a maior para a população 4 (43,7%).

O índice de fixação das plantas maternas foi truncado a zero pelo método empregado em todas as populações, provavelmente por o valor máximo deste não ter sido superior a 0,1 (Moraes e Monteiro 2002), indicando a ausência de endogamia.

Os valores estimados para o coeficiente de coancestralidade dentro de progênies ( $\hat{\theta}_{xy}$ ), que mede a probabilidade de se amostrar aleatoriamente dois alelos em dois indivíduos e eles serem idênticos por descendência, foram consideravelmente



**Figura 4.** Estimativa da taxa de cruzamento multiloco individual por família ( $\hat{t}$ ) em quatro populações amostrais de *Dyckia ibiramensis* Reitz.

maiores que o esperado para irmãos-completos (0,250) nas populações 1 e 4 (0,561 e 0,301), e próximo a este valor na população 3 (0,237). A população 2 apresentou o menor valor de coancestralidade (0,187), levemente superior ao de meio-irmãos (0,125), fato que confere com a alta porcentagem de progênies geradas por cruzamentos aleatórios.

O conhecimento do coeficiente de coancestria é importante na estimativa do tamanho efetivo de variância ( $\hat{N}_{e(v)}$ ), o qual mede a representatividade genética de uma população em função de alterações nas frequências alélicas entre gerações, em razão dos efeitos da deriva genética (Cockerham 1969). Em amostras de estruturas de progênies de tamanho infinito, o tamanho efetivo de variância assume valores entre (1) e (4), correspondendo valor um para progênies de autofecundação, dois para progênies de irmãos-completos e quatro para progênies de meio-irmãos (Sebbenn 2003). Assim, as estimativas do tamanho efetivo de variância de *D. ibiramensis* foram, de modo geral, baixas (tabela 5), principalmente nas populações 1 e 4, indicando que a representatividade genética na descendência é muito inferior à esperada em progênies de cruzamentos aleatórios.

Através do tamanho efetivo de variância é possível determinar o número de plantas matrizes ( $\hat{m}$ ) necessárias para a coleta de sementes visando reter um determinado tamanho efetivo para, por exemplo, programas de conservação genética *ex situ* de espécies ameaçadas. Neste sentido, para reter um tamanho efetivo de 100 nas diferentes populações de *D. ibiramensis*, seria necessário coletar sementes de 112, 41, 51 e 63 matrizes nas populações 1, 2, 3 e 4, respectivamente (tabela 5).

#### 4. Discussão

De forma geral, espécies raras e endêmicas normalmente apresentam variabilidade genética reduzida (Kruckeberg e Rabinowitz 1985; Hamrick e Godt 1989; Karron 1991; Ellstrand e Elam 1993; Cole 2003), devido, principalmente, à influência de forças evolutivas como deriva genética e seleção, ou eventos como gargalos genéticos e efeitos fundadores (Barrett e Kohn 1991; Karron 1991). Contudo, os presentes resultados discordam desta hipótese. *D. ibiramensis* apresentou altos índices de diversidade genética (tabela 2) quando comparada a outras espécies de Bromeliaceae e monocotiledôneas em geral, e inclusive em comparação às espécies endêmicas e raras (tabela 6).

Também dentro do mesmo gênero taxonômico, espécies raras comumente são categorizadas como possuidoras de menores valores de diversidade genética em comparação a espécies comuns (Karron 1991; Ellstrand e Ellam 1993; Cole 2003),

Tabela 6: Estimativas de diversidade e estrutura genética, em nível de populações, para algumas espécies de Bromeliaceae, monocotiledôneas, espécies endêmicas e raras, obtidas através de marcadores alozímicos.  $\hat{P}(\%)$ : porcentagem de locos polimórficos;  $\hat{A}$ : número de alelos por loco;  $\hat{H}_e / \hat{H}_s$ : diversidade gênica;  $F_{st} / G_{st} / \theta_p$ : divergência genética.

Espécies	$\hat{P}(\%)$	$\hat{A}$	$\hat{H}_e / \hat{H}_s$	$F_{st} / G_{st} / \theta_p$	Referência
<i>Aechmea magdalenae</i> (André) André ex Baker	24,1	—	0,084	0,356	Murawski e Hamrick 1990
<i>Aechmea tuitensis</i> Magaña & E. J. Lott	38,2	1,60	0,120	0,196	Izquierdo e Piñero 2000
<i>Dyckia brevifolia</i> Baker	27,0	1,40	0,067	0,376	Rogalski 2007
<b><i>Dyckia ibiramensis</i> Reitz</b>	<b>63,9</b>	<b>2,00</b>	<b>0,203</b>	<b>0,237</b>	<b>Este trabalho</b>
<i>Pitcairnia geyskesii</i> L. B. Smith	63,3	—	0,183	0,322	Sarthou <i>et al.</i> 2001
<i>Puya raimondii</i> Harms*	2,3	—	0,011	0,961	Sgorbati <i>et al.</i> 2004
<i>Tillandsia achrostachys</i> E. Morr. Ex Baker	59,4	1,86	0,210	0,391	González-Astorga <i>et al.</i> 2004
<i>Tillandsia ionantha</i> Planch.	16,7	1,37	0,070	0,043	Soltis <i>et al.</i> 1987
<i>Tillandsia recurvata</i> (L.) L.	3,8	1,06	0,010	0,906	Soltis <i>et al.</i> 1987
<i>Vriesia friburgensis</i> Mez	70,0	2,30	0,226	—	Alves <i>et al.</i> 2004
Monocotiledôneas	40,3	1,66	0,144	0,231	Hamrick e Godt 1989
Endêmicas	26,3	1,39	0,063	0,248	Hamrick e Godt 1989; Godt e Hamrick 1996
Raras	27,6	1,42	0,113	0,212	Cole 2003

\* Dados obtidos através de marcadores AFLP

generalização nem sempre verdadeira, como enfatizado por Gitzendanner e Soltis (2000 e suas referências). Conforme estes autores, espécies raras com diferentes características podem manter distintos níveis e padrões de diversidade genética. Assim, apesar de possuir menor distribuição geográfica, *D. ibiramensis* apresentou maiores valores nas estimativas de diversidade genética que *D. brevifolia* (ver Rogalski 2007), provavelmente, devido às diferenças no modo de reprodução das espécies. Enquanto *D. brevifolia* é predominantemente autógama (Rogalski 2007), *D. ibiramensis* é preferencialmente de cruzamentos, sugerindo, neste caso, que o sistema reprodutivo talvez influencie mais na perda de variabilidade genética que a reduzida área de ocorrência em si.

Os parâmetros de estruturação genética (tabela 3) mostraram que existe forte estruturação na espécie. Os índices de fixação médios sugerem que não há excesso de homozigotos dentro das populações, mas o há na espécie como um todo, o que pode ser decorrente de efeitos de deriva genética associado à estruturação genética em subpopulações e cruzamentos não aleatórios. Para a bromélia *Aechmea magdalanae* (André) André ex Baker, Murawski e Hamrick (1990) sugerem que seus índices de fixação significativamente diferentes de zero, podem indicar cruzamentos preferenciais ou também serem artefatos em detrimento de efeito fundador e crescimento clonal. A alta divergência encontrada entre as populações (0,237) também é fato comum em plantas clonais, já que

nestas as populações tendem a serem únicas em sua composição genética (Ellstrand e Roose 1987).

Segundo Hamrick e Godt (1989), espécies de cruzamento mantêm a maior parte de sua variabilidade genética distribuída dentro de populações, diferente de espécies predominantemente de autofecundação, onde a maior parte está entre populações. Como *D. ibiramensis* possui mecanismos de auto-incompatibilidade (artigo 1) e apresenta padrão de distribuição agrupado, altos valores de divergência genética podem ocorrer se existirem barreiras para o fluxo gênico (Murawski e Hamrick 1990). Embora esta espécie produza grande quantidade de sementes com alta taxa de viabilidade (artigo 1) e a dispersão por hidrocoria seja viável, a probabilidade de uma semente oriunda de uma população a montante se deslocar no rio e chegar a um local específico para continuar seu desenvolvimento é muito remota, mesmo frente à proximidade geográfica das populações. Conforme Cavallari *et al.* (2006), nas espécies *Encholirium biflorum* (Mez) Forzza e *E. pedicellatum* (Mez) Rauh a pequena dispersão de sementes é provavelmente um dos principais fatores de estruturação genética das populações. Mesmo que o fluxo gênico por sementes pareça ser pequeno, não se pode descartar a possibilidade de fluxo via pólen, visto que os principais polinizadores da espécie (*X. brasilianorum* e *T. glaucopsis*) podem, teoricamente, voar a longas distâncias (artigo 1). Porém, a quantidade de fluxo efetivo de pólen entre populações é influenciada pela separação espacial, tamanho e densidade relativas, fenologia e vegetação adjacente (Loveless e Hamrick 1984).

Além disso, a alta divergência genética entre as populações (figura 3) frente à proximidade geográfica destas (figura 1) indica que existe a tendência de que a maior parte das sementes permaneça próxima à planta matriz, formando populações estruturadas em manchas. De fato, mesmo com a possibilidade de dispersão por anemocoria e hidrocoria, muitas sementes caem e permanecem muito próximas à planta mãe (observação pessoal). Conseqüentemente, existe certa probabilidade de que uma touceira seja formada por distintos *genets*, mesmo que aparentados no grau de, pelo menos, meio-irmãos. Em *A. magdalenae* (Murawski e Hamrick 1990) e em três espécies do gênero *Encholirium* (Cavallari *et al.* 2006), foi encontrado que as populações são constituídas por múltiplos genótipos, indicando que foram originadas por mais de uma semente ou que indivíduos de origem sexuada se estabeleceram após a colonização (Murawski e Hamrick 1990), ou ainda, que a ocorrência de mutações somáticas poderia adicionar diversidade genética às populações (Cavallari *et al.* 2006).

A grande quantidade de alelos muito raros e a detecção de alelos fixados em *D. ibiramensis* (tabela 1), indica que o conjunto das populações esteja submetido a fortes

efeitos de deriva genética. Quando uma espécie está dividida em pequenas populações, ou uma população está subdividida em demes, isoladas entre si e com pouco fluxo gênico, a deriva pode resultar em maiores divergências pela oscilação aleatória das frequências alélicas (Cole 2003). Por outro lado, alelos raros são importantes, pois podem contribuir para a adaptação em condições de estresse ambiental ou alterações bruscas do ambiente (Sebbenn 2002).

É importante lembrar que as estimativas de frequências alélicas, diversidade e estrutura genética apresentadas correspondem às progênies das populações e não aos indivíduos adultos e, portanto, podem ter sofrido desvios em detrimento dos tipos de cruzamentos (aleatórios ou biparentais) ocorridos durante o evento reprodutivo.

Com relação à distribuição das frequências alélicas e da diversidade genética dentro e entre as quatro populações amostradas neste estudo (tabela 1 e 2), a maior homogeneidade das frequências alélicas entre as populações 1 e 2 somada às suas maiores taxas de locos polimórficos e diversidade gênica, indicam que, possivelmente, estas constituam o centro de diversidade de *D. ibiramensis*. Pensando na história natural das populações, a semelhança nas frequências de alelos comuns e raros para quase todos os locos entre as populações 1, 2 e 4, associada à menor estimativa da diversidade gênica desta última população e sua localização mais a jusante no rio (figura 1), indicam que provavelmente as populações 1 e 2 sejam as ancestrais da população 4. Ainda nesta mesma linha de raciocínio, a população 4 pode ser a ancestral da população 3, visto que nesta foi detectada a mesma inversão encontrada para a população 4, quanto ao alelo comum do loco *Prx3*, em relação as populações 1 e 2. Além disso, a população 3 foi a que apresentou o maior número de alelos muito raros e encontra-se muito próxima à população 4 geograficamente (figura 1). Como na espécie em estudo a dispersão de sementes pode ocorrer tanto por anemocoria como hidrocoria (artigo 1), existe a possibilidade de que as populações 3 e 4 tenham se originado através de propágulos sexuais.

Quando há o estabelecimento de novas populações através de poucos fundadores originais (efeito fundador), são válidas as mesmas implicações citadas por Ellstrand e Ellam (1993) para populações de reduzido tamanho, quanto a alterações na estrutura genética das populações fundadas devido a mudanças aleatórias nas frequências alélicas, incluindo a perda e fixação de alelos. Estes aspectos, por sua vez, provocam uma divergência genética em relação à população ancestral, e a redução da variabilidade genética, além do acúmulo de endogamia associado ao aumento dos níveis de homozigosidade (Templeton 1980).

Os resultados de estruturação genética corroboram com esta idéia de populações ancestrais e fundadas, como pode ser observado no dendrograma apresentado (figura 3).

As populações 1 e 2 foram as únicas cuja divergência não foi significativa, e foram agrupadas juntamente com a população 4. Ao que tudo indica, a população 3 é a que está submetida a maiores efeitos da deriva na sua estruturação genética, visto, principalmente, pela grande quantidade de alelos muito raros que possui e por ter apresentado a maior divergência genética entre as populações.

Apesar dos altos índices de diversidade gênica detectados para *D. ibiramensis* serem relevantes para sua conservação *in situ* (Sebbenn *et al.* 1998), a associação entre efeito fundador, forte deriva genética e baixo fluxo gênico, limita a diversidade das populações e, conseqüentemente, a possibilidade de diferentes combinações genotípicas. Isto pode interferir no potencial evolutivo da espécie implicando em uma menor capacidade de adaptação às possíveis mudanças ambientais ao longo das gerações. Um maior fluxo gênico entre populações poderia minimizar este quadro, desde que este não ocorresse somente entre populações pobres geneticamente, dado que poderia atuar negativamente reduzindo ainda mais a variabilidade genética de uma população relativamente diversa (Ellstrand e Ellam 1993).

Com relação ao sistema reprodutivo de *D. ibiramensis*, a heterogeneidade das freqüências alélicas pólen e óvulos (tabela 4) indica que o pólen que contribuiu para a formação das plântulas não foi decorrente de uma amostra representativa da população, mas sim advindo sistematicamente das mesmas plantas. Diferenças nas freqüências pólen e óvulo podem ser atribuídas a diferenças na função masculina e feminina das plantas, a imigração de pólen de fora das populações amostradas, a amostragem não representativa das plantas maternas, a desvios de cruzamentos aleatórios causados por autofecundações, a endogamia biparental, cruzamentos biparentais, e a variação na fenologia de florescimento (Sebbenn *et al.* 2000; Gusson *et al.* 2006). É válido ressaltar que esta heterogeneidade também poderia ser um viés da pequena amostragem, já que foram amostradas apenas dez progênies de cada população.

A análise do sistema reprodutivo de *D. ibiramensis* pela estimativa da taxa de cruzamento multilocos, mostrou que a espécie tem sistema misto, sendo um indicativo de autocompatibilidade, e que se reproduz preferencialmente por cruzamentos (tabela 5 e figura 4). Contudo, os experimentos de biologia reprodutiva realizados para esta mesma espécie (artigo 1) sugerem a existência de sistema de auto-incompatibilidade. Tais resultados aparentemente conflitantes podem estar associados aos diferentes métodos utilizados para avaliar o sistema de reprodução (Souza *et al.* 2003), ou também à presença de variabilidade para auto-incompatibilidade na espécie. Esta última hipótese estaria em consonância com a grande variação encontrada nos valores das taxas de cruzamento

individuais por planta materna e, conseqüentemente, nas estimativas das correlações de autofecundação (tabela 5).

O sistema reprodutivo é uma característica dinâmica sujeita aos efeitos ambientais, podendo diferir entre indivíduos dentro de populações (Ritland 2002). A variação na expressão de sistemas de auto-incompatibilidade é comum em populações naturais (Lipow *et al.* 1999; Stephenson *et al.* 2000), podendo ter origem genética e ocorrer apenas em fases específicas do florescimento, fazendo com que sua presença não seja 100% efetiva (Sebbenn *et al.* 2000). Fatores não genéticos, como condições de temperatura e luminosidade (Levin 1996), ausência de polinizadores (Quesada *et al.* 2004), ou ainda, fatores fisiológicos da planta como a idade da flor ou a presença de frutos em desenvolvimento numa mesma inflorescência (Stephenson *et al.* 2000 e suas referências) podem afetar a expressão de barreiras contra autofecundação.

Levando em conta que *D. ibiramensis* possui crescimento clonal e é iterópara, o comportamento de forrageio de seus polinizadores favorece a geitonogamia, e a própria morfologia da flor facilita a ocorrência de autofecundação (artigo 1), se a espécie não possuísse algum grau de auto-incompatibilidade provavelmente não apresentaria altas taxas de cruzamento individual. Em espécies autocompatíveis o sucesso reprodutivo através da autofertilização é semelhante ou até maior que de fertilização cruzada (Levin 1996), como é o caso de *D. brevifolia*, cujas estimativas de taxa de cruzamento multilocos variaram de 0,057 a 0,113, dependendo da população (Rogalski 2007).

Também é interessante observar que os experimentos de biologia reprodutiva, realizados por polinizações manuais, foram realizados na área correspondente à população amostral 2 (artigo 1), e tendo em vista que esta população foi a que apresentou a maior taxa de cruzamento multilocos, os resultados tornam-se menos contraditórios e evidenciam a hipótese de que *D. ibiramensis* apresenta auto-incompatibilidade parcial variável tanto no nível individual como populacional.

Outro ponto relevante, é que o modelo de reprodução mista não separa a autofecundação de cruzamento entre aparentados nas análises da taxa de cruzamento individuais por família. Dessa forma, “autofecundação aparente” devido à endogamia biparental, que é funcional e evolutivamente distinta da autofecundação verdadeira, pode produzir estimativas de  $t < 1$  mesmo em espécies completamente auto-incompatíveis ou de cruzamento (Goodwillie *et al.* 2005). Ainda que as diferenças entre as estimativas de taxa de cruzamento multilocos e unilocos sugiram que há ausência ou baixíssima frequência de cruzamento entre aparentados nas progênies de cruzamento, as correlações de autofecundação entre locos [parâmetro desenvolvido mais recentemente por Ritland (2002)

justamente para estimar a autofecundação uniparental] indicam a presença de endogamia biparental em todas as populações (tabela 5). Assim, talvez a maior parte da autofecundação detectada nas análises individuais das progênes possa ser, na verdade, resultante de cruzamentos entre aparentados e, como provavelmente existe variação nos mecanismos de auto-incompatibilidade da espécie, certa proporção da taxa de autofecundação deve ser decorrente de cruzamento entre clones idênticos. O cruzamento entre aparentados também aumenta a quantidade de homozigotos nas populações, mas é uma forma menos drástica de produzir endogamia do que a autofecundação efetiva (Sebbenn *et al.* 2000).

As estimativas de correlação de autofecundação foram altas na maior parte das populações (tabela 5), indicando que existe forte tendência de algumas plantas maternas deixarem mais descendentes por autofecundações (ou cruzamentos) do que outras, não estando os indivíduos advindos de autofecundação distribuídos aleatoriamente dentro das progênes. Logo, tais resultados corroboram a idéia de que *D. ibiramensis* apresenta auto-incompatibilidade parcial.

As correlações de paternidade (tabela 5) revelaram a ocorrência de cruzamentos biparentais nas populações, indicando que as progênes não são compostas exclusivamente por meio-irmãos, mas por uma mistura de meio-irmãos, irmãos-completos e irmãos de autofecundação, em proporções variáveis de acordo com a população considerada (ver resultados). Altas estimativas de correlações de paternidade são comuns em espécies com distribuição espacial agregada que dependem da ação de insetos polinizadores (Kageyama *et al.* 2003), e estão de acordo com as observações do comportamento dos polinizadores de *D. ibiramensis* (artigo 1). *X. brasilianorum* e *T. glaucopis* visitavam sistematicamente todas as flores abertas de uma inflorescência, se deslocando, posteriormente, para outras inflorescências próximas. Tal comportamento de forrageio provavelmente estava associado com a quantidade e qualidade dos recursos disponíveis, como néctar, fatores influenciados pela densidade floral das populações (artigo 1). Plantas com crescimento clonal aumentam sua densidade populacional permitindo a multiplicação de inflorescências numa dada área (Charpentier 2002), ainda mais em espécies iteróparas. Uma maior densidade floral pode interferir no comportamento dos polinizadores no sentido de provocar deslocamentos à curta distância entre inflorescências vizinhas, pela maior disponibilidade de recursos de forma agrupada, diminuindo assim a distância média de dispersão de pólen (Richards 1997).

Como as correlações de paternidade foram, em geral, altas, o número médio de plantas que contribuíram para a polinização em cada população foi relativamente baixo, variando de apenas 1,3 a 3,2. Além do comportamento dos polinizadores, outro fator que

pode influenciar num baixo número de plantas doadoras de pólen, é que, comumente, a distribuição de pólen é leptocúrtica (Loveless e Hamrick 1984; Richards 1997). Tipicamente, mais de 50% do pólen é depositado na primeira flor visitada após sua coleta, e as deposições em flores subseqüentes diminuem rapidamente, sendo que menos de 1% do pólen coletado usualmente sobrevive no polinizador após oito sucessivas visitas em flores (Richards 1997).

Os índices de fixação evidenciaram a ausência de endogamia nas plantas adultas e nas progênies. Apesar de nestas últimas os índices de fixação estimados não serem significativamente diferentes de zero em três das quatro populações (tabela 2), suas magnitudes (valores variando de 0,144 a 0,594) devem decorrer, possivelmente, da taxa de autofecundação e dos cruzamentos entre aparentados, e não pelo acúmulo de endogamia de diferentes gerações, como discutido em Sebbenn *et al.* (2000).

Os valores estimados de coancestria foram maiores ou próximos ao esperado para irmãos-completos em todas as populações (0,561 a 0,237), com exceção da população 2, cujo valor (0,187) ficou entre o esperado para meio-irmãos e irmãos-completos. Da mesma forma que descrito anteriormente para os índices de fixação, estas altas estimativas provavelmente se devem à associação de autofecundações e cruzamentos entre parentes com os cruzamentos correlacionados, provocando o aumento da coancestria acima do esperado em progênies de meio-irmãos (Sebbenn 2003). Conforme este mesmo autor, os efeitos desses fatores, tanto isolados como combinados, reduzem o tamanho efetivo de variância e levam à necessidade da coleta de maiores tamanhos amostrais para a conservação *ex situ* do que seriam requeridos, caso os cruzamentos fossem perfeitamente panmíticos.

Realmente, os valores de tamanho efetivo de variância foram baixos (0,89 a 2,67), confirmando que o tamanho efetivo retido em amostras de sementes é reduzido, e que maior número de matrizes se faz necessário para a coleta de sementes. Embora o tamanho efetivo de 50 ser sugerido na literatura como suficiente para manter o coeficiente de endogamia a uma taxa de 1% por geração, até 10 gerações, em locos com dois alelos, em populações de espécies com gerações discretas (Frankel e Soulé 1981), é importante ficar claro que tal tamanho efetivo não é suficiente para manter por longo tempo grande proporção da variação genética (Sebbenn 2003). Assim, visando a conservação *ex situ* da espécie em curto-médio prazo, utilizou-se o tamanho efetivo de referência 100. Desta forma, retendo 20 plantas por progênie, seria necessário amostrar sementes de 41 a 112 matrizes, dependendo da população alvo (tabela 5).

Contudo, considerando que algumas populações talvez não atinjam o número de matrizes recomendado, pela sua pequena densidade populacional, recomenda-se que seja realizada a coleta do maior número de matrizes disponíveis em cada população, evitando-se a amostragem em rosetas pertencentes à mesma touceira devido à sua estrutura genética em manchas e ao caráter clonal de *D. ibiramensis*.

Os resultados de diversidade, estrutura genética e sistema de reprodução de *D. ibiramensis* revelaram que a maior parte da diversidade genética encontra-se nas populações 1 e 2, e que as populações apresentam forte estruturação e variáveis estimativas de taxa de cruzamento, sendo esta variação devida ao sistema de auto-incompatibilidade parcial sugerido para a espécie.

No momento, a maior ameaça à perpetuação de *D. ibiramensis* na natureza é a possibilidade de construção de uma PCH em sobreposição a sua área de ocorrência. A área de alagamento do empreendimento se sobrepõe justamente com as populações detentoras da maior diversidade genética da espécie (populações 1 e 2). Considerando que se trata de uma bromélia rara, endêmica, ameaçada de extinção e que, sempre, a preservação de populações geneticamente diversas deve ser prioritária (Hamrick e Godt 1996), a manutenção *in loco* de todas as populações existentes de *D. ibiramensis* é extremamente necessária para sua conservação em médio e longo prazo. A conservação *ex situ* da espécie deve ser encarada apenas como uma forma complementar àquela *in situ*. Assim, a liberação do empreendimento comprometerá substancialmente a perspectiva de manutenção desta espécie na natureza.

## 5. Referências Bibliográficas

ALFENAS, A. C. (ed.). 1998. **Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins: fundamentos e aplicações em plantas e microorganismos**. Viçosa: UFV. 574p.

ALVES, G. M.; FILHO, A. R.; PUCHALSKI, A.; REIS, M. S.; NODARI, R. O. e GUERRA, M. P. 2004. Allozymic markers and genetic characterization of a natural population of *Vriesea friburgensis* var. *paludosa*, a bromeliad from the Atlantic Forest. **Plant Genetic Resources** 2: 23-28.

BARRETT, S. C. H. e KOHN, J. R. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants: implications for conservation. In: FALK, D. D. e HOLSINGER, K. E. (eds.). **Genetics and Conservation of Rare Plants**. Oxford University Press, New York. pp.03-30.

BIODIVERSITAS. 2006. Workshop "Revisão da Lista da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção". Disponível em <[http://www.biodiversitas.org.br/cepf/listas\\_especies.asp](http://www.biodiversitas.org.br/cepf/listas_especies.asp)>. Acessado em 12 de julho de 2006.

BROWN, A. H. D. 1989. Genetic characterization of plants mating systems. In: BROWN, A. H. D.; CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L. e WEIR, B. S. (eds.). **Plant population genetic, breeding and germoplasm resources**. Sunderland: Sinauer Associates, pp. 145-162.

CAVALLARI, M. M.; FORZZA, R. C.; YEASEY, E. A.; ZUCCHI, M. I.; OLIVEIRA, G. C. X. 2006. Genetic variation in three endangered species of *Encholirium* (Bromeliaceae) from Cadeia do Espinhaço, Brazil, detected using RAPD markers. **Biodiversity and Conservation** **15**: 4357-4373.

CHARPENTIER, A. 2002. Consequences of clonal growth for plant mating. **Evolutionary Ecology** **15**: 521-530.

CLARKE, K. R. e WARWICK, R. M. 2001. **Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation**. 2<sup>nd</sup> Ed. PRIMER-E: Plymouth, UK.

COCKERHAM, C. C. 1969. Variance of gene frequencies. **Evolution** **23**: 72-84.

COLE, C. T. 2003. Genetic variation in rare and common plants. **Annual Review of Ecology, Systematics and Evolution** **34**: 213-237.

COLLAÇO, M. (coord. geral). 2003. **Ibirama: caracterização regional**. Secretaria do Estado de Desenvolvimento Regional, SDR.

ELLSTRAND, N. C. e ELAM, D. R. 1993. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. **Annual Review of Ecology and Systematics** **24**: 217-242.

ELLSTRAND, N. C. e ROOSE, M. L. 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. **American Journal of Botany** **74**: 123-131.

FRANKEL, O. H. e SOULÉ, M. S. 1981. **Conservation and evolution**. Cambridge: Cambridge University Press. 327p.

GITZENDANNER, M. A. e SOLTIS, P. S. 2000. Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners. **American Journal of Botany** **87**: 783-792.

GOODWILLIE, C.; KALISZ, S. e ECKERT, C. G. 2005. The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. **Annual Review of Ecology Evolution and Systematics** **36**: 47-79.

GONZÁLEZ-ASTORGA, J.; CRUZ-ANGÓN, A.; FLORES-PALACIOS, A. e VOVIDES, A. 2004. Diversity and genetic structure of the mexican endemic epiphyte *Tillandsia achyrostachys* E. Morr. ex Backer var. *achyrostachys* (Bromeliaceae). **Annals of Botany** **94**: 545-551.

GUSSON, E.; SEBBENN, A. M. e KAGEYAMA, P. Y. 2006. Sistema de reprodução em populações de *Eschweilera ovata* (Cambess.) Miers. **Revista Árvore** **30**(4): 491-502.

HAMRICK, J. L. e GODT, M. J. W. 1989. Allozyme diversity in plant species. In: BROWN, A. H. D.; CLEGG, M. T.; KAHLER, A. L.; WEIR, B. S. (eds.). **Plant population genetic, breeding and germoplasm resources**. Sunderland: Sinauer Associates. pp. 43-63.

HAMRICK, J. L. e GODT, M. J. W. 1996. Conservation genetics of endemic plant species. In: AVISE, J. C. e HAMRICK, J. L. (eds.). **Conservation genetics: case histories from nature**. New York: Chapman and Hall. pp. 281-304.

IZQUIERDO, L. Y. e PIÑERO, D. 2000. High genetic diversity in the only known population of *Aechmea tuitensis* (Bromeliaceae). **Australian Journal of Botany** **48**: 645–650.

KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M.; RIBAS, L. A.; GANDARA, F. B.; CASTELLEN, M.; PERECIM, M. B. e VENCOVSKY, R. 2003. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia forestales** **64**: 93-107.

KARRON, J. D. 1991. Patterns of genetic variation and breeding systems in rare plant species. In: FALK, D. D. e HOLSINGER, K. E. (eds.). **Genetics and Conservation of Rare Plants**. Oxford University Press, New York. pp.87-98.

KEPHART, S. R. 1990. Starch gel electrophoresis of plant isozymes: a comparative analyses of techniques. **American Journal of Botany** **77**(5): 693-712.

KLEIN, R.M. 1979. Reófitas no Estado de Santa Catarina. **Separata dos Anais da Sociedade Botânica do Brasil**. São Paulo, p. 159-169.

KLEIN, R. M. 1990. **Espécies raras ou ameaçadas de extinção do Estado de Santa Catarina**. IBGE: Rio de Janeiro. v. 1. 287 p.

KRUCKEBERG, A. R. e RABINOWITZ, D. 1985. Biological Aspects of Endemism in Higher Plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** **16**: 447-479.

LEVIN, D. A. 1996. The evolutionary significance of pseudo-self-fertility. **The American Naturalist** **148**: 806-817.

LIPOW, S. R.; BROYLES, S. B. e WYATT, R. 1999. Population differences in self-fertility in the “self-incompatible” milkweed *Asclepias exaltata* (Asclepiadaceae). **American Journal of Botany** **86**(8): 1114-1120.

LEWIS, P. O. e ZAYKIN, D. 2001. Genetic Data Analysis: Computer program for the analysis of allelic data. Version 1.0 (d16c). Free program distributed by the authors over the internet from <http://lewis.eeb.uconn.edu/lewishome/software.html>.

LOVELESS, M. D. e HAMRICK, J. L. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. **Annual Review of Ecology and Systematics** **15**: 69-95.

LUCA, A. Q.; SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. e ALMEIDA, M. 2002. Sistema de reprodução e diversidade genética em plantio de *Chorisia speciosa* St. Hil. **Revista do Instituto Florestal** **14**(2): 105-113.

MORAES, P. L. R. e MONTEIRO, R. 2002. Taxas de cruzamento em uma população natural de *Cryptocarya moschata* Nees (Lauraceae). **Biota Neotropica** **2**(2): 1-10.

MURAWSKI, D. A. e HAMRICK, J. L. 1990. Local genetic e clonal structure in the tropical terrestrial bromeliad, *Aechmea magdalena*. **American Journal of Botany** **77**: 1201-1208.

NEI, M. 1977. F-Statistic and analysis of gene diversity in subdivided populations. **Annual Humans Genetics** **41**: 225-233.

NETO, J. D. G.; SEBBENN, A. M. e KAGEYAMA, P. Y. 2005. Sistema de reprodução em *Caesalpinia echinata* Lam. implantada em arboreto experimental. **Revista Brasileira de Botânica** **28**(2): 409-418.

PREFEITURA MUNICIPAL DE IBIRAMA. 2006. Ibirama, cidade dos belos panoramas. Disponível em <<http://www.ibirama.sc.gov.br/principal.htm>>, acessado em 17 de julho de 2006.

QUESADA, M.; STONER, K. E.; LOBO, J. A.; HERRERÍAS-DIEGO, Y.; PALACIOS-GUEVARA, C.; MUNGUÍAS-ROSAS, M. A.; SALAZAR, K. A. O. e ROSAS-GUERRERO, V. 2004. Effects of forest fragmentation on pollination activity and consequences for plant reproductive success and mating patterns in bat-pollinated bombacaceous trees. **Biotropica** **36**(2): 131-138.

REIS, A.; ROGALSKI, J. M.; BERKENBROCK, I.S. e VIEIRA, N.K. 2005. **Conservação de espécies reófitas de *Dyckia* no Sul do Brasil**. Relatório Parcial para Fundação Biodiversitas (Programa Espécies Ameaçadas). 28p.

REIS, M. S. dos. 1996. Dinâmica da movimentação dos alelos: subsídios para conservação e manejo de populações naturais em plantas. **Brazilian Journal of Genetics** **19**(4): 37-47. Supplement.

REIS, M. S.; MANTOVANI, A.; MANTOVANI, M.; SIMINSKI, A.; PUCHALSKI, A.; CAFFER, M. M.; SILVA, J. Z.; BERKENBROCK, I. S.; ROGALSKI, J. M. e MENDONÇA, E. N. 2003. **Caracterização da diversidade genética em populações naturais de *Raulinoa echinata* Cowan**. Relatório Final para Fundação Biodiversitas. 32p.

REIS, M.S.; HMEJJEVSKI, K.V.; BITTENCOURT, R.; FERREIRA, D. K.; FILLIPON, S.; MONTAGNA, T.; SILVA, F. A. L. da e DAROS, C. 2008. **Projeto de caracterização genética, demográfica e de aspectos da ecologia de *Dyckia ibiramensis* Reitz**. Relatório Final. 45p.

REITZ, R. 1962. De Catharinensibus Bromeliaceis Novis. **Sellowia** **14**: 99-108.

REITZ, R. 1983. **Bromeliáceas e a malária-bromélia endêmica**. Flora Ilustrada de Santa Catarina. Herbário Barbosa Rodrigues, 856p.

RICHARDS, A. J. 1997. **Plant breeding systems**. George Allen & Unwin, London. 529p.

RITLAND, K. e JAIN, S. 1981. A model for estimation of outcrossing rate and gene frequencies using  $n$  independent loci. **Heredity** **47**(1): 35-52.

RITLAND, K. 1989. Correlated matings in the partial selfer *Mimulus guttatus*. **Evolution** **43**: 848-859.

RITLAND, K. 2002. Extensions of models for the estimation of mating systems using  $n$  independent loci. **Heredity** **88**: 221-228. <http://genetics.forestry.ubc.ca/ritland/programs>.

- ROGALSKI, J. M. 2007. **Biologia da Conservação da reófito *Dyckia brevifolia* Baker (Bromeliaceae), Rio Itajaí-Açu, SC.** Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.
- SARTHOU, C.; SAMADI, S. e BOISSELIER-DUBAYLE, M. C. 2001. Genetic structure of the saxicole *Pitcairnia geyskesii* (Bromeliaceae) on inselbregs in French Guiana. **American Journal of Botany** **88**: 861-868.
- SEBBENN, A. M. 2002. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. **Revista do Instituto Florestal** **14**(2): 115-132.
- SEBBENN, A. M. 2003. Tamanho amostral para conservação *ex situ* de espécies arbóreas com sistema misto de reprodução. **Revista do Instituto Florestal** **15**(2): 147-162.
- SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y. e VENCOVSKY, R. 1998. Variabilidade genética, sistema reprodutivo e estrutura genética espacial de *Genipa americana* L. através de marcadores isoenzimáticos. **Scientia forestalis** **53**: 15-30.
- SEBBENN, A. M.; KAGEYAMA, P. Y.; SIQUEIRA, A. C. M. F. e ZANATTO, A. C. S. 2000. Sistema de cruzamento em populações de *Cariniana legalis* Mart. O. Ktze.: implicações para a conservação e o melhoramento genético. **Scientia forestalis** **58**: 25-40.
- SGORBATI, S.; LABRA, M.; GRUGNI, E.; BARCACCIA, G.; GALASSO, G.; BONI, U.; MUCCIARELLI, M.; CITTERIO, S.; IRAMÁTEGUI, A. B.; GONZALES, L. V. e SCANNARINI, S. 2004. A survey of genetic diversity and reproductive biology of *Puya raimondii* (Bromeliaceae), the endangered queen of the Andes. **Plant Biology** **6**: 1-9.
- SMITH, L. B. e DOWNS, R. J. 1974. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). **Flora Neotropica Monograph** **14**(1): 1-662. New York: Hafner Press.
- SOLTIS, D. E.; GILMARTIN, A. J.; RIESEBERG, L. e GARDNER, S. 1987. Genetic variation in the epiphytes *Tillandsia ionantha* and *T. recurvata* (Bromeliaceae). **American Journal of Botany** **74**: 531-537.
- SOUZA, L. M. F. I.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. 2003. Sistema de reprodução em população natural de *Chorisia speciosa* A. St.-Hil. (Bombacaceae). **Revista Brasileira de Botânica** **26**(1): 113-121.
- STEPHENSON, A. G.; GOOD, S. V. e VOGLER, D. W. 2000. Interrelationships among inbreeding depression, plasticity in the self-incompatibility system, and the breeding system of *Campanula rapunculoides* L. (Campanulaceae). **Annals of Botany** **85**: 211-219.
- SWOFFORD, D. L. e SELANDER, R. B. 1997. Biosys-2. A computer program for the analysis of allelic variation in population genetics. Urbana, IL: University of Illinois.
- TEMPLETON, A. R. 1980. The theory of speciation via the founder principle. **Genetics** **94**: 1011-1038.
- VAN STEENIS, C. G. C. J. 1981. **Rheophytes of the world: an account of the flood-resistant flowering plants and ferns and the theory of autonomous evolution.** Sijthoff & Noordhoff, Maryland. 407p.

VAN STEENIS, C. G. C. J. 1987. **Rheophytes of the world: supplement.** *Allertonia* 4(5): 267-330.

WEIR, B. S. e COCKERHAM, C. C. 1984. Estimating  $F$ -statistics for the analysis of population structure. ***Evolution* 38:** 1358-1370.

WORKMAN, P. L.; NISWANDER, J. D. 1970. Population studies on southwestern Indian tribes. II. Local genetic differentiation in the Papago. ***American Journal of Human Genetics* 22:** 24-49.

## Considerações finais: Implicações para conservação

*Dyckia ibiramensis* Reitz pode ser definida como uma bromélia reófito endêmica e rara do Rio Itajaí do Norte, município de Ibirama/SC, apresentando distribuição restrita a 4 km às margens das corredeiras do rio e marcante especificidade ambiental. Por possuir sistema de auto-incompatibilidade parcial, é dependente de polinização cruzada entre indivíduos geneticamente distintos para garantir um maior sucesso reprodutivo, evento realizado eficazmente por abelhas e beija-flores. As populações apresentam diversidade gênica, em média, alta, forte estruturação genética e efeitos de deriva, reforçando a importância de existir a possibilidade de troca genética entre os distintos conjuntos de plantas, podendo tal fluxo gênico ocorrer tanto via pólen, através de seus polinizadores, como via sementes, que pode acontecer pelo vento e pela água.

A proposta de construção da Pequena Central Hidrelétrica Ibirama (PCH Ibirama) é a maior ameaça em curto prazo desta espécie. Como pode ser observada na figura 1, a área de abrangência do reservatório gerado pelo empreendimento irá afetar diretamente as populações de *D. ibiramensis* situadas a montante no rio, resultando no alagamento de, aproximadamente, 50% das rosetas da espécie (Reis *et al.* 2008). As demais populações a jusante também poderão ser afetadas dado a proximidade destas com barragem e por eventuais mudanças que poderão ocorrer no fluxo do rio.

Intervenções humanas como represas representam grandes ameaças à conservação de sistemas lóticos como rios e córregos, pois provocam mudanças nos padrões hidrológicos, os quais, por sua vez, estão intimamente relacionados com a distribuição de sedimentos e nutrientes, concentração de oxigênio dissolvido, temperatura da água, estrutura de habitat e distribuição de espécies (Moulton e Souza 2006). No caso específico de *D. ibiramensis*, como se trata de uma espécie reófito, condições como correnteza e submersão temporária e esporádica são fundamentais para seu desenvolvimento na natureza (van Steenis 1981). Ainda, a turbulência gerada pela força da água, fazendo com que esta fique saturada de oxigênio e dióxido de carbono, parece ser essencial para a fisiologia deste grupo biológico (van Steenis 1981). Neste sentido, mesmo que algumas das populações permaneçam fora da suposta área do reservatório da PCH, as mudanças nos padrões hidrológicos poderão ter efeitos drásticos ainda desconhecidos na dinâmica populacional desta espécie, podendo ser perceptíveis apenas em longo prazo dado que é uma bromélia de ciclo de vida longo.

Para agravar ainda mais a situação da espécie, as populações que podem vir a ser alagadas são justamente as que apresentam as maiores estimativas de diversidade

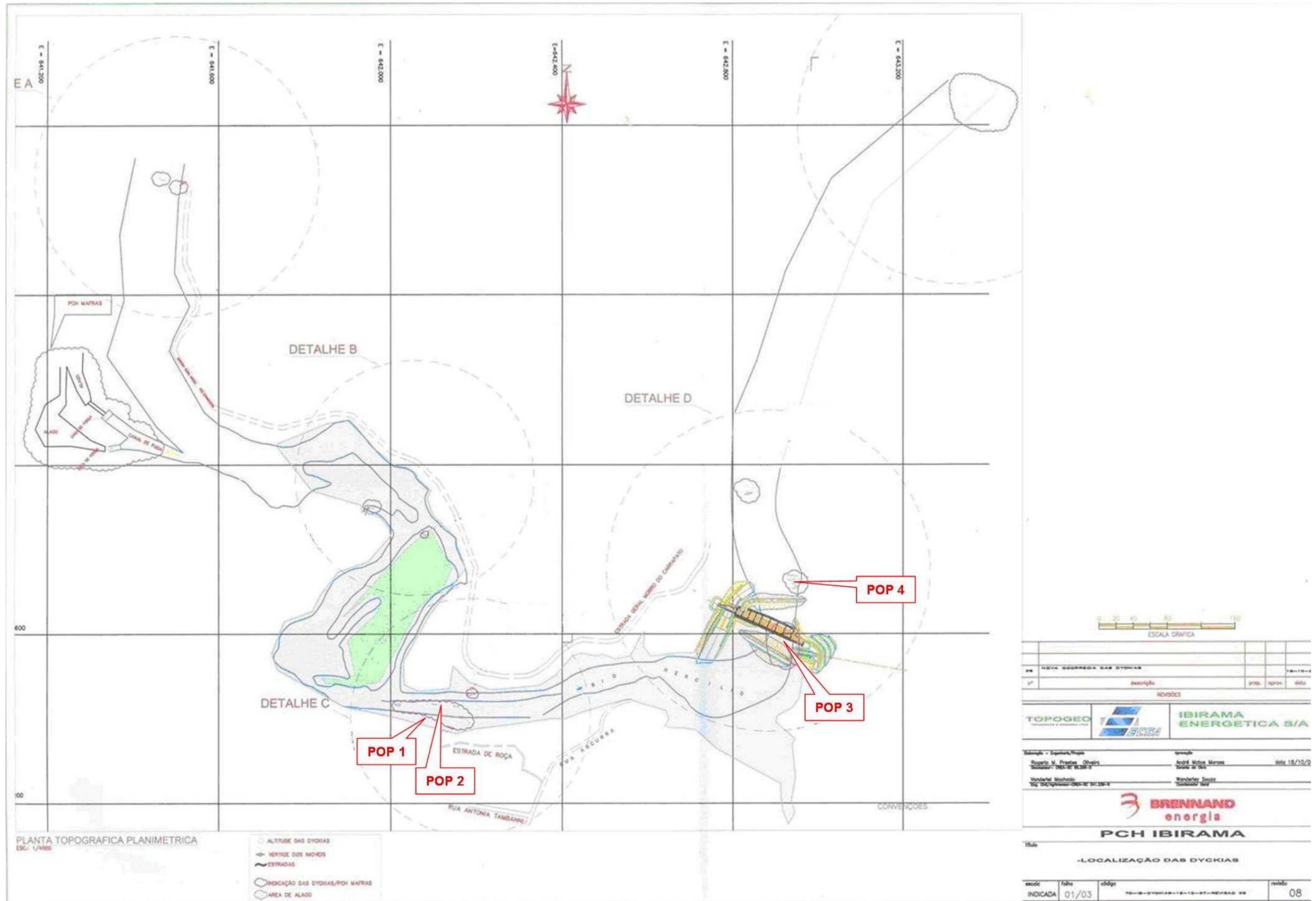


Figura 1. Provável área de abrangência do reservatório da Pequena Central Hidrelétrica (PCH) Ibirama e localização das populações de *Dyckia ibiramensis* Reitz ao longo do Rio Itajaí do Norte, Ibirama/SC. Adaptado de Ecsa (2007).

genética, e que parecem constituir o centro de diversidade da espécie. Conforme Hamrick e Godt (1996), embora muitos fatores usualmente sejam considerados para definir quais populações devem ser conservadas, a preservação de populações geneticamente diversas deve ser prioritária. Visto que as populações 3 e 4 apresentam menor variabilidade genética e parecem estar submetidas a fortes efeitos de deriva, a eliminação das populações 1 e 2 e, portanto, da possibilidade de fluxo gênico entre os distintos conjuntos, poderia ocasionar, em médio-longo prazo, a extinção local das populações remanescentes e, conseqüentemente, da espécie na natureza.

Apesar de existirem reconhecidas formas de conservação *ex situ* de plantas como a formação de coleções vivas e bancos de sementes (bancos de germoplasma), visando, principalmente, às diversas técnicas de propagação para estabelecimento ou reintrodução em comunidades naturais (Martinelli 2006), a translocação de plantas raras e ameaçadas como mitigação para impactos desenvolvimentistas é um dos temas mais complicados e controversos na conservação de plantas (Berg 1996). Prévios esforços deixam claro que esta é uma opção de risco (Howald 1996). Conforme este mesmo autor, experiências realizadas na Califórnia (EUA) utilizando translocações para mitigarem impactos a espécies ameaçadas, mostraram que, embora existam benefícios potenciais, os atuais processos possuem muitos problemas cujas soluções não são fáceis nem rápidas de serem resolvidas. Alguns destes problemas relacionam-se à falta de informação básica sobre as espécies ameaçadas, a falta de métodos de translocação aceitos, dificuldades em achar e obter locais para a mitigação, os riscos intrínsecos dos experimentos biológicos, além de problemas com a regulamentação dos projetos e com o manejo em longo prazo dos locais mitigados (Howald 1996).

Por exemplo, *Dyckia distackya* Hassler é uma bromélia também reófito que corre o risco de ser extinta na natureza no Brasil pela dizimação de quase todas as suas populações naturais devido à construção de distintas hidrelétricas ao longo do Rio Uruguai. Estudos realizados visando o potencial de aplicação de métodos de conservação *ex vitro* e *in vitro* com esta espécie, resultaram em resultados promissores para sua preservação (Pompelli e Guerra 2004). Contudo, na natureza, tentativas de reintrodução da espécie têm se mostrado frágeis principalmente pela (a) dificuldade de formação de sistema radicular capaz de proporcionar a devida ancoragem das rosetas nas rochas após sua realocação, o que, por sua vez, facilita a remoção de touceiras inteiras quando herbivoradas por capivaras, (b) aparecimentos de novos herbívoros não antes registrados em populações naturais, como larvas de lepidópteros, e (c) dificuldade de encontrar locais que apresentem

as devidas condições necessárias para o desenvolvimento de plantas reófitas (Ademir Reis e Manuela B. Wiesbauer, comunicação pessoal 2007).

Além disso, outro ponto frágil que antecede os processos de reintrodução é a correta amostragem de sementes visando a formação de bancos de sementes. O número de matrizes necessárias para se conservar um determinado tamanho efetivo alvo depende do número de plantas conservadas em cada progênie, do coeficiente de coancestria e endogamia da população que será amostrada, e da taxa de cruzamento, correlação de paternidade e variação na taxa de cruzamento entre plantas, do evento reprodutivo que deu origem às progênies a serem conservadas (Sebbenn 2003). Segundo Hamrick e Godt (1996), o estabelecimento de populações através de poucos indivíduos pode seriamente prejudicar os esforços de restauração pela produção de uma população que pode sofrer imediatamente com efeito fundador, e/ou com limitado potencial evolutivo devido à restrita base genética. Para espécies com sistema de auto-incompatibilidade, atenção especial deve ser tomada em incluir múltiplos genótipos, aumentando a perspectiva da população ser auto-suficiente (Hamrick e Godt 1996). No caso específico de *D. ibiramensis*, para a formação de um banco de sementes representativo geneticamente, seria necessária a coleta do maior número de matrizes disponíveis em cada população, evitando-se a amostragem em rosetas pertencentes à mesma touceira devido à sua estrutura genética em manchas e seu caráter clonal.

Perante estas problemáticas supracitadas e considerando-se que os objetivos de qualquer programa de conservação devem ser a segurança da sobrevivência de uma espécie em longo prazo e a manutenção de seus processos ecológicos e evolutivos (Hamrick e Godt 1996), a conservação *in situ* de *D. ibiramensis* deveria ser inquestionável.

A *in situ* é a forma ideal para conservação, visto que pode preservar não somente o potencial evolutivo de uma amostra da espécie alvo, mas também a população inteira, bem como de outros organismos com os quais ela interage, convive ou depende, como por exemplo, insetos ou animais polinizadores (Sebbenn 2003). Somente na natureza as espécies são capazes de continuar o processo de adaptação evolutiva para um ambiente em mutação dentro de suas comunidades naturais (Primack e Rodrigues 2001).

Em geral, bromélias mantêm uma grande variedade de polinizadores que dependem da contínua disponibilização dos recursos florais para sua manutenção (Rocha *et al.* 2004), e *D. ibiramensis* não foge à regra. Através dos nectários florais e/ou dos nectários extranupciais, esta espécie produz recursos importantes para manter um amplo conjunto de polinizadores ou outros utilizadores destes recursos. Assim, manter espécies de

bromeliáceas nos seus ambientes significa não apenas conservar as espécies de bromélias *per se*, mas sim conservar uma ampla gama da diversidade local (Rocha *et al.* 2004).

Finalmente, somente em Santa Catarina, três espécies reófitas do gênero *Dyckia* (*D. ibiramensis*, *D. distachya* e *D. brevifolia*) já pertencem à Lista de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção. Considerando-se que o reofitismo em espécies deste gênero de Bromeliaceae é um fenômeno exclusivo da região Sul do Brasil (Rafaela Forzza, comunicação pessoal 2007), maior atenção e mais esforços deveriam ser despendidos pelas entidades governamentais responsáveis para a conservação *in situ* deste grupo biológico. Perante os dados relatados neste estudo, conclui-se que a construção da PCH Ibirama é incompatível com a conservação de *D. ibiramensis*, e se mesmo diante disto ocorrer a liberação para sua construção, será prejudicada a existência na natureza de uma das espécies com menor distribuição geográfica conhecida no Sul do Brasil.

## Referências Bibliográficas

BERG, K. S. 1996. Rare plant mitigation: a policy perspective. **In:** FALK, D. A.; MILLAR, C. I. e OLWELL, M. **Restoring diversity: strategies for reintroduction of endangered plants.** Island Press, California. pp. 279-292.

ECSA. 2007. PCH Ibirama: subsídios para conservação de *Dyckia ibiramensis* Reitz. 33p.

HAMRICK, J. L. e GODT, M. J. W. 1996. Conservation genetics os endemic plant species. **In:** AVISE, J. C. e HAMRICK, J. L. (eds.). **Conservation genetics: case histories from nature.** New York: Chapman and Hall. pp. 281-304.

HOWALD, A. M. 1996. Translocation as a mitigation strategy: lesson from California. **In:** FALK, D. A.; MILLAR, C. I. e OLWELL, M. **Restoring diversity: strategies for reintroduction of endangered plants.** Island Press, California. pp. 293-329.

MARTINELLI, G. 2006. Manejo de populações e comunidades vegetais: um estudo de caso na conservação de Bromeliaceae. **In:** ROCHA, C. F. D.; BERGALLO, H. G.; SLUYS, M. V e ALVES, M. A. S. **Biologia da conservação: essências.** RiMa, São Carlos. pp. 479-503.

MOULTON, T. P. e SOUZA, M. L. de. 2006. Conservação com base em bacias hidrográficas. **In:** ROCHA, C. F. D.; BERGALLO, H. G.; SLUYS, M. V e ALVES, M. A. S. **Biologia da conservação: essências.** RiMa, São Carlos. pp. 157-181.

PRIMACK, R. B. e RODRIGUES, E. 2001. **Biologia da conservação.** Midiograf, Londrina. 328p.

POMPELLI, M. F. e GUERRA, M. P. 2004. *Ex situ* conservation of *Dyckia distachya*: na endangered bromeliad from South Brazil. **Crop Breeding and Applied Biotechnology 4:** 273-279.

REIS, M.S.; HMELEJEVSKI, K.V.; BITTENCOURT, R.; FERREIRA, D. K.; FILLIPON, S.; MONTAGNA, T.; SILVA, F. A. L. da e DAROS, C. 2008. **Projeto de caracterização**

**genética, demográfica e de aspectos da ecologia de *Dyckia ibiramensis* Reitz.** Relatório Final. 45p.

ROCHA, C. F. D.; COGLIATTI-CARVALHO, L.; NUNES-FREITAS, A. F.; ROCHA-PESSÔA, T. C.; DIAS, A. S.; ARIANI, C. V. e MORGADO, L .N. 2004. Conservando uma larga porção da diversidade biológica através da conservação da Bromeliaceae. **Vidalia** 2(1): 52-68.

SEBBENN, A. M. 2003. Tamanho amostral para conservação *ex situ* de espécies arbóreas com sistema misto de reprodução. **Revista do Instituto Florestal** 15(2): 147-162.

VAN STEENIS, C. G. C. J. 1981. **Rheophytes of the world: an account of the flood-resistant flowering plants and ferns and the theory of autonomous evolution.** Sijthoff & Noordhoff, Maryland. 407p.