

PROJETO DE PESQUISA

**Sistemática de *Aechmea* subgênero *Ortgiesia* (Regel) Mez
(Bromelioideae, Bromeliaceae)**

Equipe

Rebeca Politano Romanini, estudante de doutorado, IB, Universidade Estadual de Campinas

Dr. Vidal de Freitas Mansano, Jardim Botânico do Rio de Janeiro

Dr^a Maria das Graças Lapa Wanderley, Instituto de Botânica de São Paulo

Prof^a Dr^a Juliana Lischka Sampaio Mayer, IB, Universidade Estadual de Campinas

Dr^a Cynthia F. Pinho da Luz, Instituto de Botânica de São Paulo

Suzana Ehlin Martins, Bióloga

Campinas
2015

Resumo

Aechmea é o maior e mais polimórfico gênero da subfamília Bromelioideae (Bromeliaceae). Ocorre desde o México até a Argentina, em diversos tipos de ambientes, e está representado por mais de 240 espécies. Atualmente encontra-se subdividido em oito subgêneros. O subgênero *Ortgiesia* apresenta aproximadamente 25 espécies quase exclusivas da Mata Atlântica e distribuídas no Brasil, entre os estados da Bahia e Rio Grande do Sul, Paraguai, Argentina e Uruguai, onde ocorrem em florestas, restingas ou manguezais. Além de habitarem um bioma bastante ameaçado, as espécies de *Aechmea* costumam sofrer forte extrativismo devido à beleza das inflorescências. O presente projeto tem como principal objetivo realizar um estudo da sistemática de *Aechmea* subgênero *Ortgiesia*, abrangendo filogenia, morfologia, anatomia, palinologia e revisão taxonômica. Será feita a revisão taxonômica, visando estabelecer circunscrições mais precisas do subgênero e espécies, além de resolver problemas taxonômicos existentes. Através da análise molecular por sequenciamento de DNA nuclear (PHYC e Leafy) e do cloroplasto (gene *matK*, espaçadores *trnL-trnF*, *psbA-rps16* e *trnC-petN*) pretende-se testar o monofiletismo do grupo e confirmar suas sinapomorfias. Dados sobre a anatomia foliar e a morfologia polínica serão adicionados aos obtidos no estudo da morfologia externa e serão testados também como úteis na delimitação das espécies. Os estudos morfológicos, palinológicos e anatômicos ajudarão a reavaliar os caracteres diagnósticos usados no subgênero. Combinando-se os resultados das análises moleculares às análises morfológicas serão feitas análises cladísticas. Com este estudo, contribuiremos para aumentar o conhecimento e fornecer dados para a conservação das espécies de bromélias da Mata Atlântica.

Palavras-chave: Bromeliaceae, Bromelioideae, *Aechmea*, revisão taxonômica, *Ortgiesia*, filogenia.

OBJETIVOS

O presente projeto tem por objetivos:

- Estudar a filogenia das espécies de *Aechmea* subgênero *Ortgiesia*, utilizando o método cladístico, com base em caracteres moleculares e morfológicos.
- Revisar os caracteres diagnósticos do subgênero com base em estudos morfológico e anatômico, de forma a levantar caracteres que sejam potencialmente sinapomorfias do grupo.
- Realizar a revisão taxonômica das espécies de *Ortgiesia*, visando estabelecer circunscrições mais precisas para as espécies e resolver os problemas taxonômicos existentes.
- Testar a morfologia polínica como caráter taxonômico na separação ou agrupamento das espécies.

- Analisar o padrão de evolução dos caracteres morfológicos em *Ortgiesia* com base na filogenia obtida.
- Determinar o estado de conservação dos táxons a partir das observações em campo, dos padrões de distribuição geográfica e dos impactos potenciais.

JUSTIFICATIVAS

A escolha de *Aechmea* subg. *Ortgiesia* como tema do presente estudo ocorreu por se tratar de um subgênero quase exclusivo do Brasil, de grande representatividade na região centro-sul, especialmente entre São Paulo e Santa Catarina, no domínio da Mata Atlântica. Trata-se de um grupo potencialmente monofilético, reconhecido por suas espécies apresentarem sépalas conatas em 1/3 a ½ do comprimento e mucronadas no ápice.

Pretende-se com o presente trabalho fomentar as justificativas para conservação da vegetação de encosta brasileira. O trabalho proposto determinará o estado de conservação das espécies a partir do mapeamento das populações no campo e medidas de proteção/conservação poderão ser acrescidas com base nesses dados. Além disso, por serem plantas de valor ornamental e sujeitas a forte extrativismo, mantê-las em cultivo em instituição de pesquisa é uma importante medida para a preservação das espécies em estudo.

O gênero *Aechmea* apresenta relações artificiais entre os gêneros morfológicamente próximos e mesmo entre suas espécies, muitas das quais difíceis de delimitar. O subgênero *Ortgiesia* emerge como monofilético em alguns estudos moleculares, fortalecendo a hipótese de ser um grupo natural. Até então, já foram apresentadas as revisões para os subgêneros *Chevalieria*, *Macrocodion*, *Lamprococcus* e *Pothuava*. Com o presente projeto pretende-se contribuir para o melhor conhecimento de *Aechmea* a partir da revisão dos táxons pertencentes ao subgênero *Ortgiesia*.

Com base nos resultados obtidos nas análises moleculares e combinando aos dados morfológicos, será reconstruída uma hipótese robusta de filogenia do grupo, confirmando ou não seu monofiletismo. Para tanto serão utilizadas técnicas de sequenciamento de DNA nuclear e plastidial, de acordo com protocolos estabelecidos mais recentemente para Bromeliaceae e disponíveis na literatura. Pretende-se também confirmar as sinapomorfias para o subgênero.

Com o estudo anatômico foliar contribuiremos para a melhoria do conhecimento de algumas características anatômicas responsáveis pela adaptação das espécies aos respectivos hábitos e habitats, além de obtermos caracteres taxonômicos úteis para delimitar grupos de espécies e caracterizar algumas espécies em particular. Também pretende-se aumentar as informações a serem exploradas numa possível filogenia futura do gênero *Aechmea*.

A partir da morfologia do pólen pretende-se gerar mais informações para delimitar os táxons e agrupar as espécies afins, visando facilitar a taxonomia do subgênero.

Será enfatizado o estudo de campo, onde as populações serão analisadas em seu ambiente natural, uma vez que já foi verificado que com apenas material de herbário é difícil o reconhecimento dos táxons e a análise morfológica precisa. Além disso, muitas coleções de herbários encontram-se com identificações dúbias ou errôneas, o que reforça a necessidade de estudos aprofundados no grupo.

O Bromeliário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro tem uma coleção excelente e centenária. Da mesma forma, o Bromeliário do Núcleo de Pesquisa em Plantas Ornamentais do Instituto de Botânica possui um acervo numeroso de exemplares pertencentes a *Aechmea*, incluindo indivíduos originários das populações naturais conhecidas, especialmente do estado de São Paulo. Os indivíduos depositados na coleção viva desses Bromeliários poderão ser acessados a qualquer momento, o que facilitará a obtenção de material para as análises morfológicas, palinológica, anatômica e molecular.

As instituições envolvidas possuem infraestrutura adequada ao desenvolvimento deste projeto.

INTRODUÇÃO

Bromeliaceae Juss., atualmente na ordem Poales (APG III 2009), abrange 3.248 espécies em 58 gêneros (Luther 2010) e é uma das mais importantes famílias de monocotiledôneas dos pontos de vista ecológico e econômico. Possui distribuição neotropical, ocorrendo desde o sul da América do Norte, passando pela América Central até o Chile e Argentina, exceto por *Piticarnia feliciana* (A. Chev.) Harms & Mildbr. que ocorre na África Ocidental, provavelmente em decorrência de uma dispersão à longa distância (Smith & Downs 1974, Givnish *et al.* 2004, Wanderley & Martins 2007).

São apontados dois grandes centros de diversidade para a família, o Escudo das Guianas e a costa leste do Brasil (Smith 1955, Givnish *et al.* 2004, Martinelli *et al.* 2008). As bromélias teriam surgido no Escudo das Guianas há 100 milhões de anos (Ma), espalhando-se pelo Novo Mundo entre 16-13 Ma e dispersando-se para o oeste da África há cerca de 9,3 Ma (Schulte *et al.* 2005, Givnish *et al.* 2011).

As bromélias apresentam porte extremamente variável, com espécies desde alguns centímetros de comprimento (*Tillandsia*) até espécies lenhosas de grande porte que ultrapassam 10 metros de altura (*Puya*) (Wanderley & Martins 2007). Podem ser epífitas, rupícolas ou terrícolas, e essas diferentes formas de vida possibilitam a ocupação de diversos tipos de ambientes, desde o nível do mar até grandes altitudes (Smith & Downs 1974, Benzing 2000, Crayn *et al.* 2004). Características como redução das raízes, folhas em rosetas funcionando como reservatório de água e

nutrientes, suculência, tricomas absorventes e fotossíntese CAM são estratégias adaptativas aos diferentes tipos de ambientes, mesófilos ou xéricos (Smith & Downs 1974, Rauh 1990, Benzing 2000, Crayn *et al.* 2004).

Bromeliaceae é considerada uma família monofilética com base nas seguintes sinapomorfias: presença de tricomas peltados (escamas) e o número básico de cromossomos $x=25$ (Gilmartin & Brown 1987). O monofiletismo da família é confirmado por diferentes análises moleculares (Crayn *et al.* 2004, Givnish *et al.* 2004, 2007, 2011, Janssen & Bremer 2004, Linder & Rudall 2005, Schulte *et al.* 2009).

A família foi tradicionalmente subdividida em três subfamílias facilmente distinguíveis pelo tipo de sementes: plumosas em Tillandsioideae, aladas em Pitcairnioideae, apendiculadas em Bromelioideae (Smith & Downs 1974, 1977, 1979, Gilmartin & Brown 1987, Givnish *et al.* 2004). Com o avanço nas pesquisas em filogenia molecular, foram detectadas politomias nas relações subfamiliares, onde Pitcairnioideae *sensu* Harms (1930) mostrou-se parafilética e, portanto, precisava de uma nova circunscrição (Terry *et al.* 1997, Horres *et al.* 2000, Givnish *et al.* 2004). Recentemente, em estudo da filogenia molecular baseado em análise das sequências *ndhF*, Givnish *et al.* (2007) sugeriram a redelimitação de Pitcairnioideae e, assim, a divisão de Bromeliaceae passou para oito subfamílias: Brocchinioideae, Lindmanioideae, Tillandsioideae, Hechtioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e Bromelioideae; classificação confirmada posteriormente por Givnish *et al.* (2011). Do ponto de vista morfológico, essas subfamílias se separam principalmente por características dos frutos, sementes, flores e folhas.

Bromelioideae abrange mais de 800 espécies em 32 gêneros (Smith & Till 1998, Luther 2008) e abriga os gêneros com as espécies mais importantes do ponto de vista econômico e ornamental, como *Ananas*, *Aechmea*, *Billbergia*, *Neoregelia* e *Nidularium*. Teve seu monofiletismo sustentado por filogenia molecular confirmado em alguns trabalhos (Ranker *et al.* 1990, Horres *et al.* 2000, 2007, Givnish *et al.* 2007, 2011). A subfamília ocorre em todos os tipos de biomas tropicais, de dunas e desertos a florestas montanas (Sass & Specht 2010). Suas espécies são distintas das outras subfamílias por possuírem folhas serreadas, tricomas escamosos multicelulares, raiz reduzida, fruto bacáceo indeiscente, sementes gelatinosas, pétalas geralmente com apêndices e sementes maduras inaperturadas (Smith 1988, Givnish *et al.* 2007, Sass & Specht 2010).

Nos últimos anos, o número de estudos de cunho sistemático em Bromelioideae tem aumentado consideravelmente (Wendt 1997, Zizka *et al.* 1999, 2002, Canela *et al.* 2003, Faria *et al.* 2004, 2010, 2012, Sousa 2004, Schulte *et al.* 2005, Horres *et al.* 2007, Moreira 2007, Sousa *et al.* 2007, Schulte & Zizka 2008, Sousa *et al.* 2008, Almeida *et al.* 2009, Schulte *et al.* 2009, Gaiotto *et al.* 2010, Louzada & Wanderley 2010, Sass & Specht 2010, Sousa 2011), mas esse montante ainda é

pequeno frente ao número de problemas taxonômicos encontrados em diversos gêneros. A delimitação dos gêneros é considerada especialmente problemática, baseada em poucos caracteres, além disso, também são muitos os casos de imprecisão nos limites específicos (Martinelli *et al.* 2008, Schulte & Zizka 2008).

O emprego da morfologia polínica na elucidação das relações de parentesco em Bromeliaceae foi iniciado com o trabalho de Carl Mez (1894) que, através da análise das características polínicas classificou as subfamílias Pitcairnioideae e Tillandsioideae como estenopolínicas e Bromelioideae, euripolínica (com variações significativas entre as espécies), com divisão nas tribos Integrae – com grãos de pólen inaperturados, Poratae – com grãos de pólen porados e Sulcatae – com grãos de pólen sulcados. Essa divisão foi corroborada por Ehler & Schill (1973) ao utilizarem microscopia eletrônica de varredura (MEV) nos grãos de pólen de 217 espécies de 39 gêneros. Esses autores, bem como Mez (1894), classificaram os grãos de pólen de acordo com os tipos de aberturas, mas também embasaram suas análises na ornamentação da exina. O padrão de abertura é um caráter importante na Palinotaxonomia da família e essa divisão em três grupos (sulcado, porado e inaperturado) prevalece até os dias atuais. A ornamentação da exina dos grãos de pólen de Bromeliaceae é também fator de separação entre espécies, mesmo naqueles gêneros estenopolínicos. Todavia os grãos de pólen das Bromeliaceae ainda são pouco conhecidos quando comparados ao de outras famílias de monocotiledôneas, apesar de seu potencial na distinção de gêneros e espécies (Wanderley & Melhem 1991; Halbritter 1992; Moreira et al. 2005).

O gênero *Aechmea* Ruiz & Pavon

O gênero *Aechmea* é o maior dentre as Bromelioideae, com cerca de 260 espécies (Luther 2010), distribuídas desde o México até a Argentina. Estima-se que cerca de 70% de suas espécies ocorram no Brasil (Smith & Downs 1979, Luther 2001), nos mais diversos ambientes, habitando desde florestas pluviais até áreas semi desérticas (Wanderley & Martins 2007). Smith (1934) estima que a Mata Atlântica seja o centro de diversidade do gênero. Martinelli *et al.* (2008) reconhecem *Aechmea* como o segundo gênero mais diverso do domínio Mata Atlântica, com ampla distribuição e dois centros de diversidade no domínio: um em Pernambuco e Alagoas e outro entre Bahia e o Rio de Janeiro.

Suas plantas são epífitas, terrícolas ou rupícolas, com frequente propagação por rizomas basais. As folhas são lepidotas em ambas as faces, densamente rosuladas ou dísticas. Apresentam bainha bem desenvolvida, geralmente formando tanque, lâmina com margem serrilhada a aculeada. A inflorescência pode ser simples ou composta, excedendo ou inclusa na roseta foliar, sustentada por pedúnculo ereto ou levemente recurvo. As brácteas florais são, em geral, livres ou parcialmente

conatas com os entrenós dos ramos. As flores são sésseis ou raramente pediceladas, dísticas ou polísticas; as sépalas são livres ou conatas, geralmente fortemente assimétricas, as pétalas são livres, providas, na face interna, de dois apêndices basais desenvolvidos, reduzidos ou rudimentares, geralmente com duas calosidades ao longo dos filetes internos; estames menores que as pétalas, livres ou a segunda série mais ou menos adnata às pétalas, anteras dorsifixas; o ovário é ínfero, com hipanto formando ou não tubo, óvulos geralmente caudados (Smith & Downs 1979, Wanderley & Martins 2007).

Atualmente são reconhecidos oito subgêneros para *Aechmea*: *Aechmea*, *Chevaliera* (Gaudich. ex Beer) Baker, *Lamprococcus* (Beer) Baker, *Macrochordion* (De Vriese) Baker, *Ortgiesia* (Regel) Mez, *Platyaechmea* (Baker) Baker, *Podaechmea* Mez e *Pothuava* (Baker) Baker (Smith & Downs 1979). As principais características utilizadas para delimitar os subgêneros referem-se ao padrão de ramificação da inflorescência (simples ou composta), flores sésseis ou pediceladas, simetria das sépalas e morfologia dos apêndices petalíneos. Essas características não são muito consistentes, tornando os limites entre os subgêneros nem sempre claros. Por exemplo, Schulte *et al.* (2005), em sua filogenia molecular de Bromelioideae, provaram que o apêndice petalíneo é um caráter muito homoplástico para ser tão valorizado na taxonomia da subfamília. O polimorfismo e a recorrente sobreposição de caracteres tornam as relações infragenéricas em *Aechmea* artificiais e pouco compreendidas, com espécies mal posicionadas no respectivo subgênero ou mesmo no próprio gênero *Aechmea*, como apontado por diversos estudos (Smith & Downs 1979, Sousa & Wanderley 2000, Faria *et al.* 2004, 2010, 2012. Martins *et al.* 2007).

Os subgêneros de *Aechmea* têm sido alvos de estudos revisionais desde a década de 90, quando Wendt (1997) apresentou a revisão para *Pothuava*. Alguns anos depois, foram publicados estudos com o subgênero *Chevaliera* de cunho morfológico (Sousa *et al.* 2008) e de anatomia foliar (Sousa *et al.* 2005). Faria (2010) publicou a revisão do subgênero *Macrochordion* e o estudo da anatomia foliar do grupo (Faria *et al.* 2012). Em 2011, foi apresentada a revisão taxonômica e a filogenia molecular de *Lamproccocus* (Sousa 2011). Dos subgêneros exclusivamente brasileiros, apenas *Ortgiesia* ainda não foi alvo de revisão taxonômica.

Estudando espécies de *Aechmea* do estado de São Paulo, Proença & Sajo (2004) puderam separar os táxons com base na anatomia foliar. Em estudo anatômico da folha das espécies de *Aechmea* subg. *Chevaliera*, Sousa *et al.* (2005) observaram características úteis na separação das espécies, tais como posição dos estômatos, a ocorrência de câmara subestomática com células espessadas, a presença de hipoderme, o número de camadas do parênquima aquífero, o tipo de células que interrompem os canais de aeração e a distribuição de fibras do mesofilo. Apesar da homogenia na maioria dos caracteres analisados nas folhas das espécies do subgênero

Macrochordion, Faria *et al.* (2012) encontraram alguns caracteres úteis na taxonomia do grupo. Variações na superfície das células interrompendo os canais de aeração foram detectadas em todas as análises anatômicas dos subgêneros de *Aechmea*: *Lamprococcus* (Aoyama e Sajo 2003), *Chevaliera* (Sousa *et al.* 2005) e *Macrochordion* (Faria *et al.* 2012).

Os estudos filogenéticos em *Aechmea* vêm sendo apresentados principalmente em análises da subfamília, e em algumas análises de subgêneros. Em diversos resultados apresentados o gênero emerge como grupo polifilético e artificial, inclusive com a maioria dos subgêneros não representados por grupos monofiléticos (Faria *et al.* 2004, Schulte & Zizka 2008, Schulte *et al.* 2009, Sass & Specht 2010, Givnish *et al.* 2011). Em filogenia baseada em marcadores moleculares do tipo AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphisms*), o subgênero *Ortgiesia* aparece como um grupo natural (Horres *et al.* 2007). Em estudos da filogenia de Bromelioideae com base em marcadores moleculares do cloroplasto (Schulte *et al.* 2005, Schulte & Zizka 2008) *Ortgiesia* emerge como grupo monofilético, incluindo *A. racinae* (subg. *Lamprococcus*), com forte suporte estatístico. Também em filogenia molecular apresentada por Sass & Specht (2010), *Aechmea* subg. *Ortgiesia* emerge com grupo monofilético com forte suporte estatístico, incluindo *Billbergia zebrina*. Apesar de esses estudos indicarem o monofiletismo do subgênero *Ortgiesia*, poucas espécies foram utilizadas nas análises e estudos mais amplos, com exemplares de todas as espécies, poderão acrescentar mais dados ao esclarecimento das relações interespecíficas.

Ortgiesia foi descrita primeiramente como gênero por Regel (1867) tendo como tipo *Ortgiesia tillandsioides*. Baker (1879), em sua “Sinopse das *Aechmea*”, rebaixou-o a seção, com duas espécies, *A. legrelliana* e *A. ortgiesii*. No tratamento para a Flora Brasiliensis, Mez (1892) elevou-a a subgênero, com seis espécies – *A. hamata* Mez., *A. dealbata* E. Morren, *A. fasciata* Baker, *A. legrelleana* Baker, *A. ortgiesii* Baker e *A. burchelli* Baker. Na monografia para a Flora Neotropica, Smith & Downs (1979) sinonimizaram o subgênero *Hoplophytum* em *Ortgiesia* e trataram 19 espécies para o subgênero. Luther (2010), em sua compilação dos binômios para a família baseada na Flora Neotropica, atribuiu 23 espécies e 16 variedades ao subgênero *Ortgiesia*. Além desses, *A. kleinii* Reitz também vem sendo considerado em *Ortgiesia* na literatura desde Wendt (1997).

As espécies de *Aechmea* subg. *Ortgiesia* ocorrem na faixa litorânea entre os estados do Espírito Santo e Rio Grande do Sul, no domínio da Mata Atlântica, em florestas, restingas ou manguezais, com exceção de *A. recurvata* var. *recurvata* (Klotzsch) L. B. Smith que também ocorre no Paraguai, Uruguai e nordeste da Argentina e de *A. calyculata* (E. Morren.) Baker, que tem referência a uma localidade na Argentina (Smith & Downs 1979).

As principais características das espécies referidas para o subgênero *Ortgiesia* são: inflorescências simples ou compostas, geralmente pedunculadas, com flores laxa ou densamente

dispostas; brácteas florais não decorrentes; flores sésseis; sépalas conatas em 1/3 a 1/2 do comprimento, com mucrons tão longos quanto os lobos livres; pétalas com ápice cuculado e apêndices distintos (Smith & Downs 1979). A combinação de sépalas conatas e mucronadas distingue o subgênero dos demais. Para a separação das espécies são utilizadas, até o momento, características como padrão de ramificação da inflorescência, comprimento da flor, comprimento do mucron da sépala e forma do ovário.

Dentre as espécies do subgênero *Ortgiesia* algumas apresentam afinidade morfológica e difícil circunscrição, como destacado por Martins *et al.* (2007). Por exemplo, o complexo formado por *Aechmea coelestis* (K. Koch) E. Morren, *A. gamossépala* Wittm., *A. gracilis* Lindm. e *A. organensis* Wawra apresenta grande plasticidade morfológica, o que dificulta a delimitação de suas espécies (Martins *et al.* 2007), além disso existem morfotipos entre essas espécies, cujas identificações são difíceis, como observado nas coleções de herbário. As espécies desse grupo compartilham as seguintes características: o padrão variável de ramificação da inflorescência, desde simples a composta, flores azuis e hábito semelhante, além de algumas vezes serem simpátricas, o que leva a crer na possibilidade de existirem híbridos entre elas. Trabalhando com coleções de São Paulo, Martins *et al.* (2007) diferenciaram as espécies através do porte das plantas, tamanho das flores, forma do ovário, cor do ovário e das sépalas, e posição da placenta no ovário. As autoras concluem que após extensa análise de materiais de herbário encontraram muitas variações para cada um dos táxons, inclusive na mesma população. Além dessas espécies, *Aechmea caudata* Lindm. também apresenta afinidades morfológicas com *A. coelestis*, partilhando inclusive do mesmo habitat. Em material vivo a separação dessas duas espécies é fácil a partir das cores das flores (sépalas, pétalas e ovário), mas em material herborizado há certa dificuldade em distinguí-las.

Conforme pode ser observado, os caracteres e a delimitação infragenérica em *Aechmea* é bastante problemática e apenas com o estudo de revisão de cada subgênero será possível avançar no conhecimento e circunscrição do gênero, assim como na relação com gêneros afins, como *Portea*, *Canistrum* e *Bilbergia*.

METODOLOGIA

Trabalho de campo

Com base na revisão de literatura, busca em banco de dados e em estudo de materiais de herbários, serão selecionadas as localidades a serem visitadas. Será dada ênfase às localidades onde foram coletados os tipos de cada espécie, entre os estados do Espírito Santo e Rio Grande do Sul (fig. 1); aos locais onde sejam observados pouca intensidade de coletas; e às localidades onde haja

populações conhecidas. No campo, os indivíduos serão fotografados e analisados quanto à morfologia das partes vegetativas e reprodutivas, principalmente da inflorescência e flores. As coletas serão direcionadas a amostrar a variabilidade morfológica da espécie em cada população. O material testemunho será depositado nos herbários da Unicamp (UEC), do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro (RB) e do Instituto de Botânica (SP), e duplicatas serão distribuídas a outros herbários que abrigam coleções importantes de bromélias, como o R, HBR, MN, ou a herbários próximos às localidades das coleções.

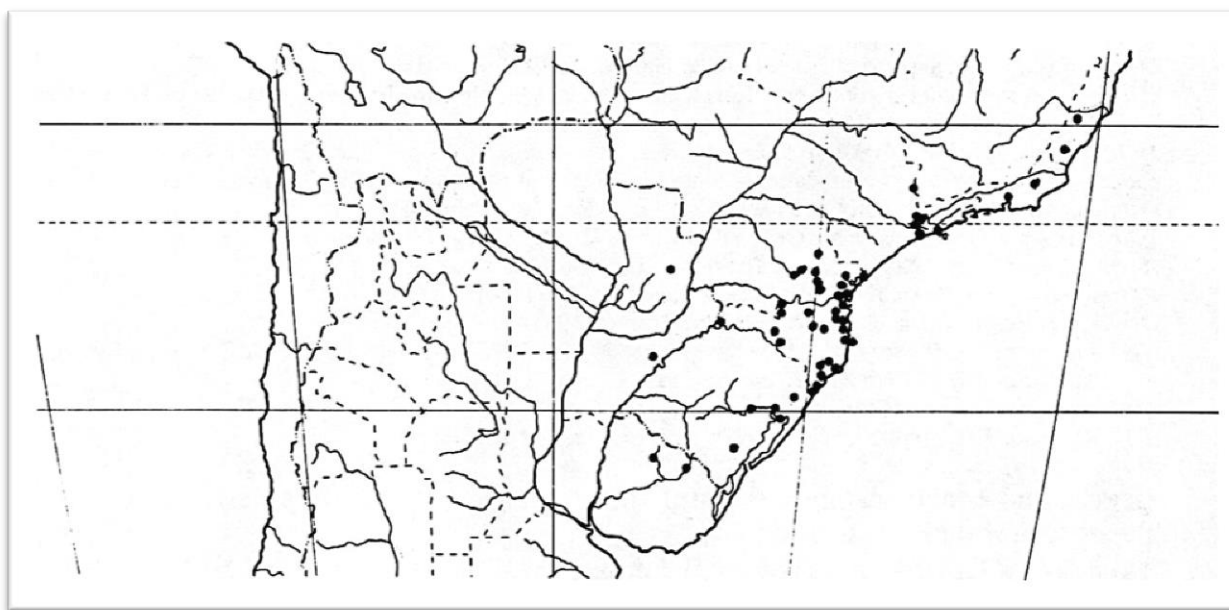


Fig.1: Mapa de distribuição geográfica de *Aechmea* subg. *Ortgiesia* (Smith & Downs 1979).

À medida do possível serão levados indivíduos para cultivo nas estufas dos Bromeliários do Instituto de Botânica de São Paulo e do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, onde são mantidas duas importantes coleções vivas, ampliando as amostras de *Aechmea* e permitindo uma análise mais precisa dos caracteres morfológicos a partir das plantas vivas. Além do acompanhamento da floração, o cultivo dos espécimes coletados facilitará a obtenção de amostras para as análises anatômica, palinológica e molecular, bem como, auxiliará na conservação *ex situ* dos táxons estudados.

Análise de coleções

Será feito um levantamento das coleções nos principais herbários do país: Espírito Santo (MBML, VIES), Rio de Janeiro (GUA, HB, R, RB, RFA), São Paulo (ESA, HRCB, IAC, SP, SPF, SPSF, UEC), Paraná (FUEL, HUPG, MBM, UPCB), Santa Catarina (FLOR, HBR) e Rio Grande do Sul (HAS, HVAT, ICN,

PACA, PEL). Herbários reconhecidos por abrigar importantes coleções de Bromeliaceae serão visitados ou consultados, como B, HEID, HAL, K, M, MO, NY, SEL, US, principalmente aqueles que abrigam coleções tipo.

Estudos moleculares

Todos os táxons de *Ortgiesia* e morfotipos intermediários serão amostrados com mais de um espécime. Além desses, serão analisados espécimes de *Aechmea leptantha* (Harms.) Leme & J.A. Siqueira, *Canistrum pickilii* (A.Lima & L.B. Sm.) Leme & J.A. Siqueira, *Canistrum aurantiacum* E. Morren, *Portea petropolitana* (Wawra) Mez e *Cryptanthus glaziovii* Mez. Como grupo externo serão utilizados espécimes de *Bromelia*, *Cryptanthus*, *Ananas* e *Puya*, além das espécies tipo dos demais subgêneros de *Aechmea*.

A extração do DNA será feita a partir de folhas de material fresco ou material seco em sílica-gel, de acordo com o método CTAB 2X de Doyle & Doyle (1987). Após tratamento com iniciadores adequados, o DNA das regiões selecionadas será purificado, amplificado em termociclador (PCR) e sequenciado, de acordo com protocolos padrão. Serão testados os marcadores PHYC e Leafy (nucleares) e o gene *matK*, os espaçadores *trnL-trnF*, *psba-trnH*, *trnK-rps16*, *trnC-petN* (plastidiais), uma vez que tem se mostrado os mais polimórficos para Bromeliaceae na maioria dos trabalhos (Schulte & Zizka 2008, Schulte *et al.* 2009, Versieux *et al.* 2012).

As sequências serão editadas no programa Sequencer v. 4.8 (Gene Codes Corporation) e alinhadas utilizando o Clustal X (Larkin *et al.* 2007) e posteriores ajustes serão feitos manualmente no programa Mesquite, versão 2.75 (Maddison & Maddison 2011). As análises de máxima parcimônia serão rodadas no programa PAUP* versão 4.0b 10 (Swofford 2002). Para as análises Bayesianas será utilizado o programa Mr. Bayes v. 3.1.1 (Ronquist & Huelsenbeck 2003).

Essa etapa do projeto será realizada no laboratório de Biologia Molecular do Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Durante essa fase, pretende-se executar um estágio de pesquisa na Universidade James Cook, Austrália, sob a orientação da Dr^a Katharina Schulte, especialista em filogenia molecular de Bromelioideae.

Tratamento taxonômico

Será realizado tratamento para cada táxon, com cabeçalhos completos, revisão dos tipos nomenclaturais, descrições detalhadas, lista de materiais examinados, ilustrações, chaves de identificação. Serão fornecidas informações ecológicas e o status da conservação dos táxons.

Anatomia foliar

As estruturas foliares serão descritas com o objetivo de acrescentar dados à delimitação das espécies e com fins de comparação na matriz de dados morfológicos. Serão analisadas as folhas das espécies a partir do material coletado, garantindo assim sua informação de procedência para a seleção do material a ser examinado, considerando-se a variabilidade das espécies. Serão repetidos indivíduos da mesma espécie para comparação da variabilidade inter e intraespecífica. Porções medianas de folhas retiradas da periferia da roseta serão fixadas em FAA 50 e posteriormente transferidas para etanol 50% (Johansen 1940). Para o estudo anatômico, as secções transversais das lâminas serão obtidas à mão livre e clareados em solução de hipoclorito de sódio 20%, corados com azul de astra (solução aquosa 1%) e safranina aquosa 1% (Bukatsch 1972) e montados em gelatina glicerina. – 2 a 3 indivíduos por espécie.

Para os testes histoquímicos, secções de material fresco serão submetidas ao Sudan IV para evidenciar cutina e substâncias lipídicas (Gerlach 1984), cloreto férrico 3% (Johansen, 1940) para compostos fenólicos, ao floroglucinol em meio ácido para confirmar a presença de lignina (Sass 1951) e à solução de lugol para evidenciar amido ou compostos fenólicos (Johansen 1940). Para a documentação dos resultados será realizada a captura de imagens usando câmera de vídeo Olympus DP71 acoplada ao microscópio Olympus BX 51.

Serão também feitas análises com o uso de microscópio eletrônico de varredura (MEV), para se obter informações sobre as características das células epidérmicas e tricomas em vista frontal. Para a análise da superfície das amostras em microscopia eletrônica de varredura (MEV), o material botânico será fixado em solução de FAA, desidratado em série etílica e seco pelo método do ponto crítico com CO₂ no equipamento Balzers modelo CPD 030. Em seguida, o material será montado em suportes metálicos e recoberto com ouro coloidal por 220 segundos no equipamento Bal-Tec modelo SCD 050. A análise e o registro eletromicrográfico serão realizados ao microscópio eletrônico de varredura LEO modelo VP 435 operado a 20 kV, no Instituto de Biologia/UNICAMP.

As análises ultraestruturais das amostras em microscopia eletrônica de transmissão (MET) serão realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biologia/UNICAMP. As amostras serão fixadas em glutaraldeído 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,2 M pH 7,25, durante 24 horas a 4°C. A pós-fixação com tetróxido de ósmio (OsO₄) 1,0% também em tampão cacodilato de sódio 0,2 M. A desidratação será feita em série crescente de solução de acetona e o material embebido em resina Spurr®, conforme instruções do fabricante. As secções ultrafinas serão contrastadas com acetato de uranila (Watson, 1958) e citrato de chumbo (Reynolds, 1963), examinadas ao microscópio eletrônico de transmissão Philips EM 100 operado a 80 Kv e documentadas com filme Kodak 35mm Eastman-5302

Essa parte do projeto será desenvolvida no Instituto de Biologia da UNICAMP, sob a supervisão da Prof^a Dr^a Juliana Lischka Sampaio Mayer.

Morfologia polínica

O estudo da morfologia polínica será realizado com as coleções obtidas durante a fase inicial de desenvolvimento do projeto, bem como com alguns espécimes mantidos sob cultivo. Em caso de ausência de material fresco poderá ser utilizado material herborizado das coleções estudadas. Para cada espécie serão analisados, no mínimo, três espécimes para a confirmação dos dados observados, dentre esses um será selecionado como material padrão para a caracterização morfológica, aferição de medidas e confecção das ilustrações.

Serão coletadas, pelo menos, três botões florais de cada espécime, próximas à antese, e retiradas duas a três anteras por flor, para a obtenção de uma amostra significativa de material polínico, conforme protocolo de Salgado-Labouriau *et al.* (1965). Visto que já fora observado em alguns estudos a fragilidade dos grãos de pólen de Bromeliaceae (Wanderley & Moreira 2000, Moreira 2007), para análise de pólen em microscopia óptica será feito tratamento com acetólise láctica (ACLAC) de Raynal & Raynal (1971), indicada para grãos de pólen frágeis, ou caso seja possível, será utilizado o tratamento com a acetólise de Erdtman (1960). Serão então tomadas as medidas e observados os caracteres morfopolínicos, em seguida será feito tratamento estatístico das medidas efetuadas. No material padrão serão obtidas medidas dos diâmetros equatoriais maior e menor, em vista polar, e diâmetros polar e equatorial, em vista equatorial. Serão feitos tratamentos estatísticos e dada a faixa de variação, sendo calculados: média aritmética ($\bar{x}$), desvio padrão da média (S_x), desvio padrão da amostra (s), o coeficiente de variabilidade (VC%) e a faixa de variação. As comparações das médias serão feitas através da análise do intervalo de confiança (IC) a 95% (Vieira 1981). Para as medidas dos demais caracteres como aberturas e paredes dos grãos de pólen, bem como dos diâmetros dos materiais de comparação, será calculada, somente, a média aritmética de 10 medidas. Os resultados serão documentados em fotomicrografias de microscopia fotônica.

Para a análise de morfologia polínica em microscopia eletrônica de varredura (MEV) será seguido o protocolo de Melhem *et al.* (2003) para grãos de pólen não acetolizados. Essa análise será realizada para observação detalhada da ornamentação da exina e da forma das aberturas dos grãos de pólen com um espécime por espécie.

Essa etapa do projeto será desenvolvida no Núcleo de Palinologia do Instituto de Botânico de São Paulo, com a colaboração da Dr^a Cynthia F. Pinho da Luz. As análises em microscopia eletrônica de varredura (MEV) serão realizadas no Instituto de Biologia da Unicamp.

Evolução dos caracteres morfológicos

O estudo morfológico dos espécimes será realizado através da análise dos caracteres vegetativos e reprodutivos, nesse caso pela dissecção das estruturais florais e dos frutos. A partir das observações tanto da morfologia externa, como da anatomia foliar e morfologia do pólen, serão selecionados caracteres para a construção de uma matriz de dados para análises estatísticas, com o objetivo de plotar árvores de hipóteses das relações filogenéticas entre as espécies do subgênero *Ortgiesia*.

A partir das árvores obtidas, será realizada a análise da evolução dos caracteres morfológicos verificados como mais variáveis, como por exemplo, cor das flores, medidas das sépalas, forma do ovário e posição da placenta no ovário. Os caracteres selecionados serão mapeados na topologia produzida com uso do programa Mesquite v. 2.75 (Maddison & Maddison 2011). Pretende-se combinar a árvore obtida aqui com a obtida através da análise de sequenciamento do DNA, resultando numa hipótese filogenética mais robusta.

Conservação

Todas as populações amostradas no trabalho de coleta serão georreferenciadas em GPS (Global Position System) e com os dados serão confeccionados mapas de distribuição dos táxons. Serão indicados os táxons que não ocorrem em unidades de conservação e as ações antrópicas observadas nos habitats serão relatadas, com o objetivo de fomentar a conservação das espécies em seu ambiente natural. A partir das informações obtidas durante o trabalho pretende-se atualizar a situação de conservação dos táxons.

CRONOGRAMA DE ATIVIDADES

O cronograma das atividades que serão desenvolvidas durante a execução do projeto é apresentado na tabela 2.

Tabela 2: Cronograma de execução do projeto.

Atividades \ Semestre	1	2	3	4	5	6	7	8
Trabalho de campo		X	X	X	X	X		
Disciplinas	X	X	X	X				

Análise molecular				X	X	X	X
Análise morfológica	X	X	X	X	X	X	X
Anatomia foliar			X	X	X	X	
Estudo palinológico			X	X	X	X	
Análise dos dados				X	X	X	X
Discussão dos resultados					X	X	X
Redação da tese						X	X

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, V.R.; Costa, A.F.; Mantovani, A.; Golçavez-Esteves, V.; Arruda, R.C.O. & Forzza, R.C. 2009. Morphological phylogenetics of *Quesnelia* (Bromeliaceae, Bromelioideae). *Systematic Botany* 34(4): 660-672.
- Aoyama, E.M. & Sajo, M.G. 2003. Estrutura foliar de *Aechmea* Ruiz & Pav. subgênero *Lamprococcus* (Beer) Baker e espécies relacionadas (Bromeliaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 26(4): 461-473.
- APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105-121.
- Baker, J.G. 1879. A synopsis of the genus *Aechmea* R. & P. *Journal of Botany* 17: 132.
- Benzing, D.H. 2000. *Bromeliaceae: profile of an adaptive radiation*. Cambridge, Cambridge University Press, 690p.
- Brown, G.K. & Gilmartin, A.J. 1984. Stigma, structure and variation in Bromeliaceae – neglected taxonomic characters. *Brittonia* 36: 364-374
- Canela, M.B.F., Paz, N.P.L. & Wendt, T. 2003. Revision of the *Aechmea multiflora* complex (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 143: 189-196.
- Crayn, D.M., Winter, K. & Smith, A.C. 2004. Multiple origins of crassulacean acid metabolism and the epiphytic habitat in the Neotropical family Bromeliaceae. *Plant Biology* 102: 3703-3708.
- Doyle, J.J. & Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- Erdtman, G. 1960. The acetolysis method. A revised description. *Svensk Botanisk Tidskrift* 54: 561-564.
- Faria, A.P.G.; Wendt, T. & Brown, G.K. 2004. Cladistic relationships of *Aechmea* (Bromeliaceae, Bromelioideae) and allied genera. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 91: 303-319.
- Faria, A.P.G.; Wendt, T. & Brown, G.K. 2010. A revision of *Aechmea* subgenus *Macrochordion* (Bromeliaceae) based on phenetic analyses of morphological variation. *Botanical Journal of the Linnean Society* 162: 1-27.
- Faria, A.P.G., Vieira, A.C.M. & Wendt, T. 2012. Leaf anatomy and its contribution to the systematics of *Aechmea* subgenus *Macrochordion* (de Vriese) Baker (Bromeliaceae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 11p.
- Forzza, R.C.; Costa, A.; Siqueira Filho, J.A. & Martinelli, G. 2010a. Bromeliaceae. In R.C. Forzza *et al.* (eds.) *Catálogo de plantas e fungos do Brasil*, vol. 1, Rio de Janeiro, Andrea Jakobsson Estúdio, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, p. 778-816.
- Forzza, R.C. *et al.* 2010b. Síntese da diversidade brasileira. In R.C. Forzza *et al.* (eds.) *Catálogo de plantas e fungos do Brasil*, vol. 1, Rio de Janeiro, Andrea Jakobsson Estúdio, Instituto de Pesquisas

- Jardim Botânico do Rio de Janeiro.
- Gaiotto, D.F.; Tardivo, R.C. & Cervi, A.C. 2010. O gênero *Billbergia* Thunber (Bromeliaceae) no estado do Paraná, Brasil. *Fontqueria* 56(11): 81-100.
- Gerlach, D. 1984. *Botanische mikrotechnik*. Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- Gilmartin, A.J. & Brown, G.K. 1987. Bromeliales, related monocots and resolution of relationships among Bromeliaceae subfamilies. *Systematic Botany* 12(4): 493-500.
- Givnish, T.J.; Millam, K.C.; Evans, T.M.; Hall, J.C.; Pires, J.C.; Berry, P.E. & Sytsma K.J. 2004. Ancient vicariance or recent long-distance dispersal? Inferences about phylogeny and South American-African disjunctions in Rapateaceae and Bromeliaceae based on *ndhF* sequence data. *International Journal of Plant Science* 165: S35-S54.
- Givnish, T.J.; Millam, K.C.; Berry, P.E. & Sytsma, K.J. 2007. Phylogeny, adaptive radiation and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. *Aliso* 23: 3-26.
- Givnish, T.J.; Barfuss, M.H.J.; Van Ee, B.; Riina, R.; Schulte, K.; Horres, R.; Gonsiska, P.A.; Jabaily, R.S.; Crayn, D.M.; Smith, J.A.C.; Winter, K.; Brown, G.K.; Evans, T.M.; Holst, B.K.; Luther, H.; Till, W.; Zizka, G.; Berry, P. & Sytsma, K.J. 2011. Phylogeny, adaptative radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany* 98(5): 872-895.
- Govaerts, R.; Luther, R.E. & Grant, J. 2005. *World Checklist of Bromeliaceae*. Kew, The Board of Trustees of the Royal Botanical Gardens, publicado na internet: <http://www.kew.org/wcsp/>; acessado em agosto de 2012.
- Horres, R.; Zizka, G.; Kahl, G. & Weising, K. 2000. Molecular phylogenetics of Bromeliaceae: evidence from trnL (UAA) intron sequences of the chloroplast genome. *Plant Biology* 2: 306-315.
- Horres, R.; Schulte, K.; Weising, K. & Zizka, G. 2007. Systematics of Bromelioideae (Bromeliaceae) - evidence from molecular and anatomical studies. *Aliso* 23: 27-43.
- Janssen, T. & Bremer, K. 2004. The age of major monocot groups inferred from 800+ *rbcl* sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society* 146: 385-398.
- Johansen, D.A. 1940. *Plant microtechnique*. New York, McGraw-Hill Book.
- Larkin, M.A.; Blackshields, G.; Brown, N.P.; Chenna, R.; McGettigan, P.A.; McWilliam, H.; Valentin, F.; Wallace, I.M.; Wilm, A.; Lopez, R.; Thompson, J.D.; Gibson, T.J. & Higgins, D.G. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 23(21): 2947-2948.
- Linder, H.P. & Rudall, P.J. 2005. Evolutionary history of Poales. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 36: 107-124
- Louzada, R.B. & Wanderley, M.G.L. 2010. Revision of *Orthophytum* (Bromeliaceae): the species with sessile inflorescences. *Phytotaxa* 13: 1-26.
- Luther, H.E. 2001. De rebus Bromeliacearum III. *Selbyana* 22: 34-67.
- Luther, H.E. 2008. *An alphabetical list of bromeliad binomials*. 11ª ed. Sarasota, The Marie Selby Botanical Gardens Bromeliad Society International. 114p.
- Luther, H.E. 2010. *An alphabetical list of bromeliad binomials*. 12ª ed. Sarasota, Sarasota Bromeliad Society & The Marie Selby Botanical Gardens. 45p.
- Maddison, D.R. & Maddison, W.P. 2003. MacClade 4.05 OS X. *Analysis of Phylogeny and Character Evolution*. Massachusetts, Sinauer, Sunderland.
- Maddison, W.P. & Maddison, D.R. 2011. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis, version 2.75. Disponível em: mesquiteproject.org/Mesquite_Folder/docs/mesquite/manual. Acessado em agosto/2013.
- Martinelli, G.; Vieira, C.M.; Gonzalez, M.; Leitman, P.; Piratininga, A.; Costa, A.F. & Forzza, R.C. 2008. Bromeliaceae da Mata Atlântica Brasileira: lista de espécies, distribuição e conservação. *Rodriguésia* 59(1): 209-258.
- Martins, S.E.; Wanderley, M.G.L. & Proença, S.L. 2007. *Aechmea*. In Wanderley, M.G.L. & Martins, S.E. (coord.) Bromeliaceae. In T.S.A. Melhem, M.G.L. Wanderley, S.E. Martins, S. Jung-Mendaçolli, G.J. Shepherd, M. Kirizawa (eds.) Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo. São Paulo, Instituto de Botânica, vol 5, p. 44-59.
- Melhem, T.S.; Cruz-Barros, M.A.V.; Corrêa, A.M.S.; Makino-Watanabe, H.; Silvestre-Capelato, M.S.F. & Gonçalves-Esteves, V.L. 2003. Variabilidade polínica em plantas de Campos do Jordão (São

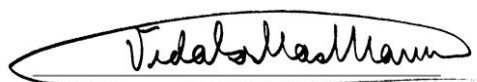
- Paulo, Brasil). *Boletim do Instituto de Botânica de São Paulo* 16: 1-104.
- Mez, C. 1891-94. Bromeliaceae In C.F.P. von Martius, A.W. Eichler & I. Urbain (eds.) *Flora Brasiliensis*, Vol. 3, part 3. München, Leipzig, pp. 173-674.
- Moreira, B.A. 2007. Palinotaxonomia da família Bromeliaceae do Estado de São Paulo. Tese de doutorado. São Paulo, Instituto de Botânica.
- Proença, S.L. & Sajo, M.G. 2004. Estrutura foliar de espécies de *Aechmea* Ruiz & Pav. (Bromeliaceae) do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta botânica brasílica* 18(2): 319-331.
- Ranker, T.A.; Soltis, D.E.; Soltis, P.E.; Gilmartin, A.J. 1990. Subfamilial phylogenetic relationships of Bromeliaceae: evidence from chloroplast DNA restriction site variation. *Systematic Botany* 15: 425-434.
- Rauh, W. 1990. *The bromeliad lexicon*. 2 ed. London, Blandford.
- Raynal, A. & Raynal, J. 1971. Une technique de préparation des grains de pollen fragiles. *Adansonia* 11: 77-79.
- Regell, E.A. 1867. *Gartenflora* 16: 193, t. 547
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J.P. 2003. MRBAYES 3: Bayesian inference of phylogeny. *Bioinformatics* 19: 1572-1574.
- Salgado-Labouriau, M.L.; Vanzolini, P.E. & Melhem, T.S. 1965. Variation of polar axes and equatorial diameters in pollen grains of two species of *Cassia*. *Grana Palynologica* 6: 98-105.
- Sass, J.E. 1951. Botanical Microtechnique. 2^{ed.}, Iowa, Iowa State College Press.
- Sass, C. & Specht, C.D. 2010. Phylogenetic estimation of the core Bromelioids with an emphasis on the genus *Aechmea* (Bromeliaceae). *Molecular Phylogenetics Evolution* 55(2): 559-571.
- Sajo, M.G.; Prychid, C.J. & Rudall, P.J. 2004. Structure and development of the ovule in Bromeliaceae. *Kew Bulletin* 59: 261-267.
- Sajo, M.G.; Rudall, P.J. & Prychid, C.J. 2004. Floral anatomy of Bromeliaceae, with particular reference to the evolution of epigyny and septal nectarines in commelinid monocots. *Plant Systematics and Evolution* 247: 215-231
- Schulte, K.; Horres, R. & Zizka, G. 2005. Molecular phylogeny of Bromelioideae and its implications on biogeography and evolution of CAM in the family (Poales, Bromeliaceae). *Senckenbergiana biologica* 85: 1-14.
- Schulte, K. & Zizka, G. 2008. Multi locus plastid phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) and the taxonomic utility of petal appendages and pollen characters. *Candollea* 63(2): 209-225.
- Schulte, K.; Barfuss, M.H.J. & Zizka, G. 2009. Phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) inferred from nuclear and plastid DNA loci reveals the evolution of the tank habit within the subfamily. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 51: 327-339.
- Smith, L.B. 1934. Geographical evidence on the lines of evolution in the Bromeliaceae. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 66: 446-465.
- Smith, L.B. 1955. The Bromeliaceae of Brazil. *Smithsonian Miscellaneous Collection* 126: 1-290. Washington, Smithsonian Institution.
- Smith, L.B. 1988. New key to the genera of the Bromeliaceae. *Beitrage zur Biologie der Pflanzen* 63: 403-411.
- Smith, L.B. & Downs, R.J. 1974. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica. Monograph* No. 14, Part 1. New York, Hafner Press.
- Smith, L.B. & Downs, R.J. 1977. Tillandsioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica. Monograph* No. 14, Part 2. New York, Hafner Press.
- Smith, L.B. & Downs, R.J. 1979. Bromelioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica. Monograph* No. 14, Part 3. New York, Hafner Press.
- Smith, L.B. & Till, W. 1998. Bromeliaceae. In K. Kubitzki (ed.) *The families and genera of vascular plants*, vol. 4. Berlin, Springer, pp 74-99.
- Sousa, G.M. 2004. Revisão taxonômica de *Aechmea* Ruiz & Pavon subg. *Chevaliera* (Gaudich. ex Beer) Baker Bromelioideae – Bromeliaceae. Tese de Doutorado. São Paulo, Universidade de São Paulo, 185p.
- Sousa, G.M. & Wanderley, M.G.L. 2000. *Aechmea* Ruiz & Pav. (Bromeliaceae) do Estado de Pernambuco, Brasil. *Acta botânica brasílica* 14(1): 77-97.
- Sousa, G.M., Estelita, M.E.N & Wanderley, M.G.L. 2005. Anatomia foliar de espécies brasileiras de *Aechmea* subg. *Chevaliera* (Gaudich. ex Beer) Baker, Bromelioideae-Bromeliaceae. *Revista Brasileira de Botânica*. 28(3): 603-613.
- Sousa, G.M.; Wanderley, M.G.L. & Alves, M. 2008. Inflorescence architecture in Brazilian species of *Aechmea* subgenus *Chevaliera* (Bromeliaceae – Bromelioideae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 158: 584-592.

- Sousa, L.P.F. 2011. Revisão taxonômica e filogenia de *Aechmea* Ruiz & Pav. subgênero *Lamprococcus* (Beer) Baker, Bromelioideae: Bromeliaceae. Tese de Doutorado. Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 160p.
- Sousa, L.P.F.; Wendt, T.; Brown, G.K.; Tuthill, D.E. & Evans, T.M. 2007. Monophyly and phylogenetic relationships in *Lymania* (Bromeliaceae: Bromelioideae) based on morphology and chloroplast DNA sequences. *Systematic Botany* 32(2): 264-270.
- Swofford, D.L. 2002. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and Other Methods). [4.0b10]. Massachusetts, Sinauer Associates, Sunderland.
- Terry, R.G.; Brown, G.K. & Olmstead, R.G. 1997. Examination of subfamilial phylogeny in Bromeliaceae using comparative sequencing of the plastid locus *ndhF*. *American Journal of Botany* 84: 664-670.
- Versieux, L.M.; Barbará, T.; Wanderley, M.G.L.; Calvente, A.; Fay, M.F. & Lexer, C. 2012. Molecular phylogenetics of the Brazilian giant bromeliads (Alcantarea, Bromeliaceae): implications for morphological evolution and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 64 (2012): 177-189.
- Wanderley, M.G.L. & Moreira, B.A. 2000. Flora Fanerogâmica da Reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (São Paulo, Brasil). 178 – Bromeliaceae. *Hoehnea* 27: 259-278.
- Wanderley, M.G.L. & Martins, S.E. (coord.) 2007. Bromeliaceae. In T.S.A. Melhem, M.G.L. Wanderley, S.E. Martins, S. Jung-Mendaçolli, G.J. Shepherd, M. Kirizawa (eds.) *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*. São Paulo, Instituto de Botânica, vol 5, p. 39-161.
- Wanderley, M.G.L.; Louzada, R.B.; Sousa, G.M.; Lima, T.T. & Versieux, L.M. 2009. Bromeliaceae. In A.M. Giulietti, A. Rapini, M.J.G. de Andrade, L.P. de Queirós & J.M.C. da Silva (org.) *Plantas raras do Brasil*. Belo Horizonte, Conservação Internacional, p. 103-114.
- Wendt, T. 1997. A review of the subgenus *Pothuava* (Baker) Baker of *Aechmea* Ruiz & Pav. (Bromeliaceae) in Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society* 125: 245-271.
- Zizka, G., Horres, R., Nelson, E.C. & Weising, K. 1999: Revision of the genus *Fascicularia* Mez (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 129: 315-332.
- Zizka, G., Trumpler, K. & Zöllner, O. 2002: Revision of the genus *Ochagavia* (Bromeliaceae, Bromelioideae). *Willdenowia* 32: 331-350.

São Paulo, 8 de abril de 2015.

Rebeca Politano Romanini

Visto e de acordo,



Dr. Vidal de Freitas Mansano
Orientador