

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

ERIKA CRISTINA CORDEIRO DOS SANTOS

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE ESPÉCIES DO GÊNERO *TILLANDSIA*  
(BROMELIACEAE) OCORRENTES NO PARQUE ESTADUAL DE VILA VELHA- PR

CURITIBA

2021

ERIKA CRISTINA CORDEIRO DOS SANTOS

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE ESPÉCIES DO GÊNERO *TILLANDSIA*  
(BROMELIACEAE) OCORRENTES NO PARQUE ESTADUAL DE VILA VELHA- PR

Projeto de dissertação apresentado como requisito inicial para a obtenção do título de Mestre pelo Departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Fabiano Rodrigo da Maia  
Coorientadora: Profa. Dra. Rosangela Capuano Tardivo

CURITIBA

2021

## RESUMO

O estudo da Biologia Reprodutiva em plantas é uma ferramenta para entender os processos envolvidos na reprodução das espécies e suas características evolutivas, sendo um instrumento importante para elaboração de estratégias de conservação. Este trabalho tem como objetivo estudar a Biologia Reprodutiva de três espécies de bromélias do gênero *Tillandsia* que ocorrem no Parque Estadual de Vila Velha, em Ponta Grossa-PR. Será investigado as estratégias reprodutivas das espécies *Tillandsia crocata* (E.Morren) Baker, *Tillandsia lorentziana* Griseb. e *Tillandsia streptocarpa* Baker, por meio de estudos da fenologia reprodutiva, sistemas reprodutivos e avaliação dos polinizadores. Pretende-se também, testar hipóteses de hibridização entre as três espécies, e avaliar a eficiência de barreiras reprodutivas no isolamento para cruzamentos interespecíficos. Espera-se, com a conclusão dos estudos determinados para este projeto, ter compreendido as estratégias reprodutivas, os polinizadores envolvidos, características morfológicas de cada uma das espécies, constatar a possível ocorrência de troca interespecífica de pólen e possíveis hibridizações entre as espécies foco de estudo. Espera-se, ainda, que com os resultados possa-se inferir possíveis zonas híbridas para a região subtropical, com base neste estudo primário no Parque Estadual do Vila Velha.

**Palavras-Chaves:** Biologia Reprodutiva. Isolamento reprodutivo. Bromeliaceae. *Tillandsia*.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	5
2. OBJETIVOS.....	5
2.1. Objetivo geral: .....	8
2.2. Objetivos específicos: .....	9
3. MATERIAL E MÉTODOS:.....	9
3.1 Área de estudo .....	9
3.2. Descrição das espécies em estudo .....	12
3.3. Estudos Reprodutivos .....	16
3.3.1. Fenologia reprodutiva .....	16
3.3.2. Visitantes florais .....	17
3.3.3. Estudo da viabilidade de pólen .....	17
3.3.4. Cruzamentos recíprocos.....	18
3.3.5. Cálculos de viabilidade e índices de isolamento .....	18
3.3.6. Viabilidade das sementes e taxa de germinação.....	19
3.3.7 Caracterização morfométrica e análise de dados.....	19
4. RESULTADOS ESPERADOS .....	20
5. CRONOGRAMA .....	21
6. VIABILIDADE DO PROJETO .....	21
7. REFERÊNCIAS .....	22
8. ANEXOS .....	27

## 1. INTRODUÇÃO

O conceito que define espécie tem sido debatido a longos tempos (SOLTIS; SOLTIS, 2009). Mayr (1942) sugeriu que as espécies se mantinham reprodutivamente isoladas de outras pelo cruzamento. No entanto o isolamento sugerido por Mayr, que ocorre a partir do isolamento de um genoma inteiro extrapola evidências empíricas dos estudos mais recentes (PALMA-SILVA et al., 2011). Atualmente espécies são entendidas como grupos que se mantem conectados por um fluxo gênico (WU, 2001; PETIT; EXCOFFIER, 2009). O fluxo gênico e o isolamento reprodutivo são forças que atuam sobre a manutenção da integridade das espécies (MORJAN; RIESEBERG, 2004). O isolamento do intercruzamento entre grupos de espécies diferentes ocorre devido a mecanismos de isolamento reprodutivo, os quais foram descritos por Dobzhansky (1935) e são até hoje tidos como importante fator na delimitação das espécies (MORJAN; RIESEBERG, 2004; SOLTIS; SOLTIS, 2009).

O isolamento reprodutivo nem sempre é completo, e as barreiras podem ser permeáveis, permeabilidade a qual pode variar entre grupos de espécies distintas, e pode ser prevalente entre grupos de radiação recente ou com tempos de geração longos (WU, 2001; RIESEBERG; WILLIS, 2007). O processo de especiação é associado a evolução das barreiras de isolamento reprodutivo, mas não está claro quanto isolamento é necessário para que ocorra a especiação (LOWRY et al., 2009; WIDMER et al., 2009). Variados fatores estão relacionados com o isolamento reprodutivo entre as espécies, e entender a origem do isolamento reprodutivo e quantidades de barreiras envolvidas na manutenção da integridade entre as espécies é um desafio e parece ser a ponte entre as ciências da Sistemática, Taxonomia e Evolução (RIESEBERG; WOOD; BAAK, 2006; WIDMER et al., 2009).

Nesse contexto, espécies estreitamente relacionadas que vivem em simpatria, podem ter evoluído barreiras reprodutivas que propiciam a manutenção de sua integridade taxonômica (WENDT et al., 2002). Os mecanismos de isolamento reprodutivo podem atuar em diferentes etapas do processo reprodutivo, sendo mencionadas como pré-zigóticas e pós-zigóticas (RIESEBERG; WILLIS, 2007). O isolamento de habitats, ocorrência de polinizadores específicos, diferenças no período de floração, ou ainda, a incompatibilidades pós-polinização são importantes barreiras que podem prevenir o cruzamento entre espécies, impedindo a formação do zigoto (pré-zigótico). Mesmo que a germinação do pólen ocorra, podem ainda ocorrer mortalidade zigótica ou embrionária. Caso um híbrido se desenvolva e sobreviva, este

pode ser parcialmente ou totalmente estéril, devido às barreiras genéticas ou cromossômicas que levam a irregularidade meiótica, mantendo o isolamento entre espécies (pós-zigóticos) (SOLTIS; SOLTIS, 2009).

A hibridização tem sido mencionada como importante promotor na evolução e diversificação de espécies (MALLET, 2007; SOLTIS; SOLTIS, 2009; FOLK et al., 2018). Sendo aceita como potencial propiciadora da especiação, uma vez que um híbrido estabelece um novo genótipo e torna-se isolado reprodutivamente de seus parentais (CAMPNELL, 2004; RIESEBERG, 2006). Em angiospermas a formação de espécies híbridas homoplóides e poliplóides contribuiu para a diversidade (SOLTIS; SOLTIS, 2009). A ocorrência de hibridização é descrita como prevalente em grupos de radiação recente, uma vez que estes grupos permanecem geneticamente próximos e podem não ter estabelecido totalmente suas barreiras de isolamento reprodutivo (MALLET, 2007).

A região subtropical brasileira é composta por uma variedade de fitofisionomias (LABIAK, 2014). A dinâmica climática responsável pela formação desses ambientes revela o contato entre espécies de diferentes formações. Durante períodos glaciais, espécies de ambientes secos podem ter expandido sua distribuição e ter entrado em contato com populações de outras espécies, facilitando a ocorrência simpátrica e podendo desencadear evento de introgressão gênica (PALMA-SILVA et al., 2011; PINHEIRO et al., 2013; GOUVEIA, 2015; MAIA et al., 2017). Portanto, muitas espécies próximas filogeneticamente e que ocorrem de forma simpátrica podem ser modelos interessantes para avaliarmos a existência de barreiras reprodutivas que promovam eventualmente o isolamento reprodutivo entre elas (WENDT et al., 2002).

A região fitogeográfica dos Campos Gerais do Paraná compreende campos cerrados naturais remanescentes do quaternário, preservados e isolados pela Escarpa Devoniana (MELO; MORO; GUIMARÃES, 2007). A região sobre a Escarpa Devoniana abriga uma alta biodiversidade em suas formações geomorfológicas, sendo um dos grandes pontos de biodiversidade da América do Sul (CERVI et al., 2007). O Parque Estadual de Vila Velha (PEVV) é uma das unidades de conservação situado nos Campos Gerais, apresenta vegetação característica adaptada a um microclima seletivo e integra táxons endêmicos dos Campos Gerais, representando importante patrimônio genético para a região (CERVI et al., 2007).

Bromeliaceae é a maior família dentro das angiospermas, 79 gêneros, 3684 espécies (GOUDA; et al., 2021 (com. atualizado)), que detém ocorrência predominantemente neotropical, com radiação adaptativa recente (GIVINISH, 2011). O Brasil configura a maior riqueza do grupo, 1379 espécies, sendo 1179 endêmicas, distribuídas em 56 gêneros, 24 endêmicos, distribuídos em todos os biomas brasileiros, com maior número de táxons na Floresta Atlântica seguido pelo Cerrado (FORZZA et al., 2020). Biomas estes, considerados Hotspots, devido à grande diversidade de espécies endêmicas, ameaçadas (MYERS et al., 2000). As espécies de bromélias podem se reproduzir tanto por vias sexuadas quanto por assexuadas. Tanto a autocompatibilidade quanto a autoincompatibilidade são descritas para a família (VOSGUERITCHIAN; BUZATO, 2006; MATAALLANA et al., 2010; ZANELA et al., 2012). Os Beija flores são os agentes polinizadores mais mencionados para bromélias (GARNER, 1986; VARASSIN; SAZIMA, 2000; KAEHLER; VARASSIN; GOLDENBERG, 2004; MACHADO; SEMIR, 2006).

Dentro da família Bromeliaceae, subfamília Tillandsioideae, *Tillandsia* é o maior gênero com 764 espécies (GOUDA et al. (cont.upd.)). Beija flores são importantes polinizadores para o gênero *Tillandsia*, mas tem sido descrito polinização por insetos para espécies do gênero, como borboletas abelhas e mariposas. A flexibilidade de polinizadores é sugerida como fator importante no sucesso evolutivo (GARNER, 1986; VARASSIN; SAZIMA, 2000).

Tem sido documentado ocorrência de hibridização em espécies simpátricas filogeneticamente próximas, inclusive em Bromeliaceae, que possuem morfologia floral e síndrome de polinização semelhantes, com sobreposição do período de floração e compartilhamento de polinizadores (WENDT et al., 2002; WENDT et al., 2008; MATAALLANA et al., 2010; PALMA-SILVA et al., 2011; MOTA et al., 2019). Estudos têm relatado a ineficiência dos mecanismos de isolamento reprodutivos em espécies simpátricas de Bromélias, constatando fluxo gênico interespecífico (WENDT et al., 2001; WENDT et al., 2008; PALMA-SILVA et al., 2011; MOTA et al., 2019). Barreiras pré-zigóticas são mencionadas como fracas ao isolamento interespecífico, propiciando a introgressão e hibridização (WENDT et al., 2001; WENDT et al., 2008; PALMA-SILVA et al., 2016). No entanto, poucos casos de hibridização natural são descritos para bromélias (GIVINISH, 1986; WENDT, 2008).

Zonas híbridas naturais - locais onde espécies não isoladas reprodutivamente se encontram - representam importantes instrumentos para o estudo da genética de populações selvagens, pois abrigam uma ampla diversidade genética. Configuram laboratórios onde em condições naturais podem ser analisados individualmente fatores envolvidos no isolamento reprodutivo e suas interações (WIDMER et al., 2009). O processo de hibridização nestas áreas pode estar ocorrendo por um longo tempo, sendo particularmente importantes para o estudo de espécie de difícil propagação para culturas de estudo. Zonas híbridas naturais são áreas ótimas para analisar a arquitetura genética de espécies e entender seus processos evolutivos (RIESEBERG; WHITTON; GARDNER, 1999; SCOPECE et al., 2020).

Para o PEVV são citadas 11 espécies de *Tillandsia* (CERVI et. al, 2007), entre elas, *T. lorentziana* Griseb. (subg. *Anoplophytum*), *T. crocata* (E. Morren) Baker e *T. streptocarpa* Baker (subg. *Phytarrhiza*) espécies rupícolas, que ocorrem nos afloramentos rochosos, apresentando sobreposição de floração (TARDIVO; CERVI, 2001). Neste contexto, Bromeliaceae por ser descrita como uma família que sofreu radiação adaptativa recente, e em especial as três espécies de *Tillandsia*, mencionadas anteriormente, por coexistirem em simpatria são modelo interessante para testar hipóteses relacionadas a hibridação e eficiência de barreiras de isolamento. O principal objetivo deste estudo é investigar, analisar, testar e compreender as estratégias reprodutivas, e a influência destas sobre o sucesso reprodutivo das espécies de bromélias *T. lorentziana*, *T. crocata* e *T. streptocarpa* visando entender possíveis barreiras de isolamento reprodutivo, ou possível ocorrência de cruzamento interespecífico.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo geral:

- Estudar a biologia reprodutiva de espécies do gênero *Tillandsia* (Bromeliaceae), investigando as estratégias reprodutivas das espécies *T. crocata*, *T. lorentziana* e *T. streptocarpa* através de estudos sobre a fenologia reprodutiva, sistemas reprodutivos e avaliação dos polinizadores;
- Testar hipóteses de hibridização entre as espécies *T. crocata*, *T. lorentziana* e *T. streptocarpa* e avaliar o desenvolvimento de possíveis híbridos putativos entre essas espécies.



## 2.2. Objetivos específicos:

- Observar e descrever a fenologia reprodutiva das espécies, procurando identificar possíveis barreiras pré-zigóticas no âmbito temporal;
- Realizar observações focais dos visitantes florais visando identificar a ocorrência de possíveis deposições interespecíficas de pólen;
- Testar cruzamentos recíprocos objetivando detectar cruzamentos interespecíficos entre as espécies parentais selecionadas para este estudo, e possíveis barreiras de isolamento reprodutivo desenvolvidas por estas espécies;
- Realizar a caracterização morfométrica das três espécies no PEVV, utilizando uma abordagem multivariada;
- Avaliar o sucesso reprodutivo por intermédio de estudos de produção e germinação de sementes, também mediante a testes de viabilidade e formação de sementes.

### Esses objetivos foram construídos para testar às seguintes hipóteses:

I). As espécies de bromélias (*T. crocata*, *T. lorentziana* e *T. streptocarpa*) ocorrentes nos paredões rochosos do PEVV compartilham polinizadores, favorecendo o espalhamento restrito de pólen e, conseqüente cruzamentos interespecíficos.

II). O compartilhamento de polinizadores entre as espécies (*T. crocata*, *T. lorentziana* e *T. streptocarpa*) leva a ocorrência de cruzamentos interespecíficos, uma vez que ocorrem como rupícolas, coabitam os mesmos extratos e apresentam sobreposição de período de floração.

III). As espécies se mantêm isoladas reprodutivamente por barreiras pré-zigóticas, tal como a incompatibilidade genética gametofítica.

## 3. MATERIAL E MÉTODOS:

### 3.1 Área de estudo

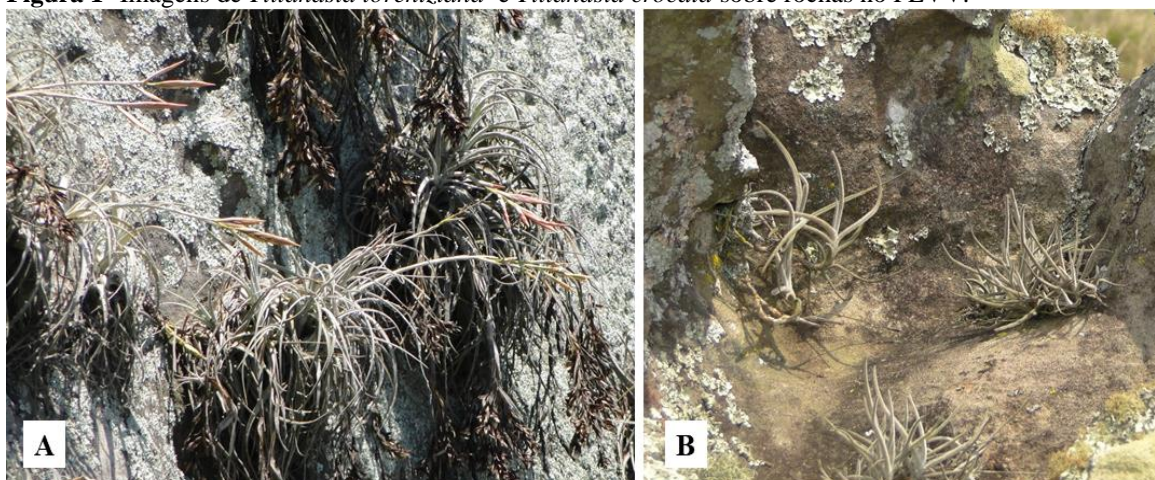
O presente estudo será desenvolvido no Parque Estadual de Vila Velha (PEVV) no município de Ponta Grossa-PR, no período de outubro de 2021 a dezembro de 2022, tendo como alvo de investigação a Biologia Reprodutiva de três espécies de bromélias que ocorrem nas áreas de afloramento rochosos do Parque. Dados climatológicos atualizados referentes a

área de estudo serão obtidos do Sistema de Tecnologia e Monitoramento Ambiental do Paraná (SIMEPAR).

O PEVV possui uma área de 3.122,11 ha, situado a 25°12'34" e 25° 15'35" de latitude Sul, 49°58'04" e 50°03'37" longitude Oeste, com uma altitude máxima de 1.068m na área denominada Fortaleza. De acordo com a classificação climática de Köppen o Parque possui clima Cfb, clima temperado propriamente dito, com temperatura média no mês mais frio abaixo de 18°C, com verões frescos, temperatura média no mês mais quente abaixo de 22°C e sem estação seca definida (INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ, 2004).

Localizado às margens da rodovia BR-376, no município de Ponta Grossa, região dos Campos Gerais do Paraná, sobre o Segundo Planalto Paranaense, o Parque é uma área de preservação que inclui espécies vegetais raras e endêmicas da região dos Campos Gerais (CERVI et al., 2007). As principais atrações do PEVV são os Arenitos Vila Velha, afloramentos rochosos de coloração avermelhada, com formas diversas que foram esculpidas ao longo do tempo principalmente pela ação de águas pluviais (CAMPOS; DALCOMUNE, 2011). Os arenitos do PEVV suportam espécies vegetais rupícolas, tais como cactos, bromélias, orquídeas, samambaias, musgos e líquens. Entre as bromélias encontradas nos paredões rochosos, prevalecem espécies do gênero *Tillandsia* (Figura 1) (TARDIVO; CERVI, 2001).

**Figura 1-** Imagens de *Tillandsia lorentziana* e *Tillandsia crocata* sobre rochas no PEVV.



**Legenda:** A- *Tillandsia lorentziana*; B- *Tillandsia crocata*;  
**Fonte:** Tardivo, R. C. (2020)

De acordo com o Plano de Manejo do Parque Estadual de Vila Velha (2004), estão descritos 16 sítios vegetacionais, que “se tratam de unidades de paisagem com peculiaridades em nível de microhabitats(…)” (IAP, 2004 p. 129). Dentre estes, 3 estão descritos como

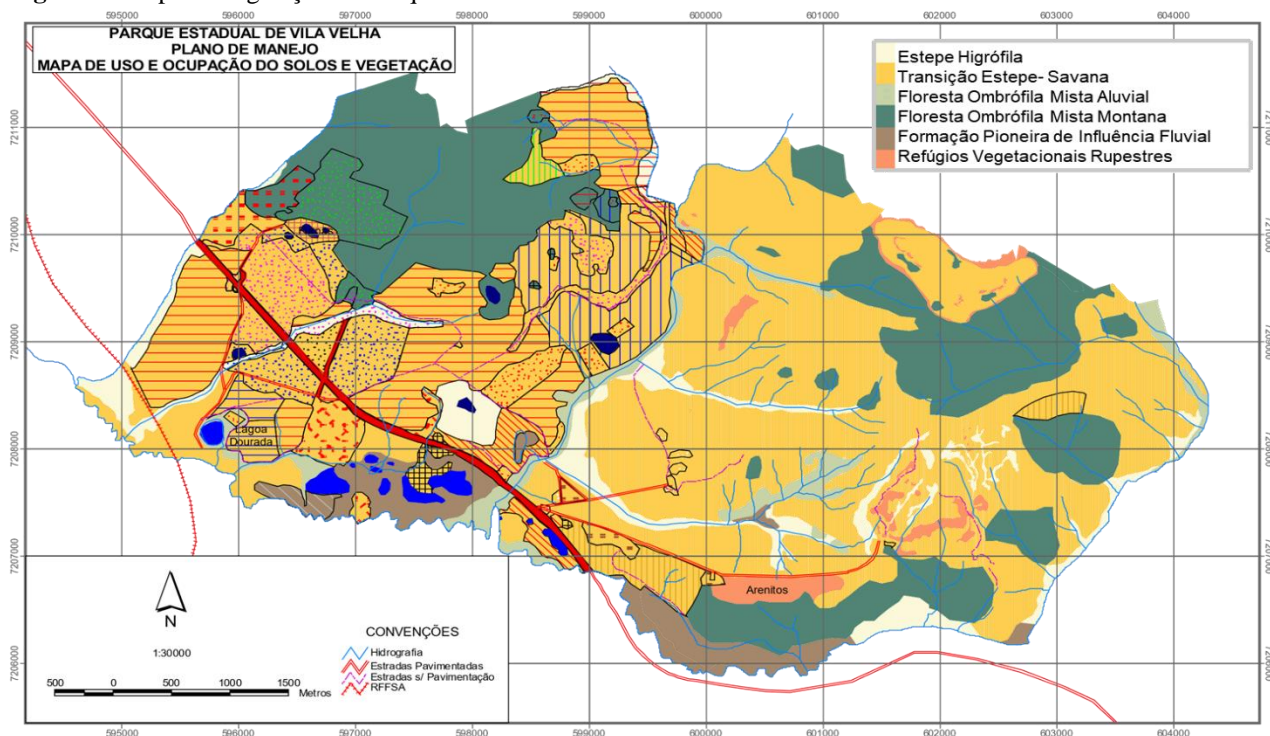
“Refúgios Vegetacionais Rupestres - vegetação dos afloramentos de arenito e paredões de rocha” (grifo nosso). Uma vez que as espécies de Bromélias selecionadas para este estudo são caracterizadas como rupícolas, ocorrentes nos afloramentos rochosos do PEVV, delimitamos como áreas de observações e coletas de dados os sítios de “Refúgios Vegetacionais Rupestres (1; 8; 14)”, figura 2.

O “Sítio 1” denominado Platô da Fortaleza, compreende uma área de 72 hectares no limite norte do Parque Estadual, com altitudes de 1000 a 1068 metros. Caracteriza-se pela extensa ocorrência de Refúgios Vegetacionais Rupestres em meio à formação de savana gramíneo lenhosa, a restritos capões de Floresta Ombrófila Mista Montana e pequenas áreas de Savana Higrófila, formadas nas imediações de olhos d'água (IAP, 2004).

A área do “Sítio 8” denominado Arenitos, detém 118 hectares, com altitude que varia de 850 a 900 metros. Trata-se de uma área alta e seca, de boa drenagem, com vegetação herbácea predominante em relevo suave ondulado. Características especialmente importantes para fauna e flora são os nichos formados entre os blocos de rocha, que criam condições microclimáticas únicas e propiciam o desenvolvimento de vegetação especializada e, em diversos casos, endêmica. Agregam valor biológico à área a ocorrência de espécies endêmicas das formações areníticas e a integridade ecológica dessas formações nos pontos onde não se permitiu a visitação. Este sítio é um local de intensa visitação turística (IAP, 2004).

O “Sítio 14” denominado Furnas, possui uma área de 122 hectares, altitude de 770 metros. No local das Furnas, observa-se um ambiente singular, em boa integridade ecológica em termos da vegetação que cobre as paredes de rocha. A área tem como características especiais a história geológica, a função de refúgio de flora e fauna, incluindo espécies altamente especializadas às condições do microambiente, e o aspecto cênico. As Furnas também são um dos principais pontos de visitação turística dentro do PEVV (IAP, 2004).

**Figura 2-** Mapa da vegetação do Parque Estadual de Vila Velha-PR.



**Fonte:** Imagens adaptada do Plano de Manejo do PEVV, IAP (2004).

A coleta de dados demandará expedições à campo com frequência quinzenal durante os estágios de vegetativos das espécies e semanais durante o período de floração. O deslocamento até a área de estudo será realizado com auxílio de um veículo disponibilizado semanalmente pelo Setor de Transportes da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). A observação e coleta de material em campo estarão sob a licença 308/11 do Instituto Água e Terra (IAT). O material coletado será depositado no Herbário do departamento de Botânica da Universidade Federal do Paraná (UPCB) e no Herbário da Universidade Estadual de Ponta Grossa (HUPG). Os estudos Morfológicos serão realizados no laboratório M41 do Departamento de Biologia Geral (DEBIO), Setor de Ciências Biológicas e da Saúde (SEBISA) da UEPG.

### 3.2. Descrição das espécies em estudo

#### A família Bromeliaceae

A família Bromeliaceae é um grupo monofilético pertencente ao clado das monocotiledôneas, ordem Poales (APG IV, 2016). A família é dividida em 8 subfamílias (Brocchinioideae, Bromelioideae, Hechtioideae, Lindmanioideae, Navioideae, Pitcairnioideae,



Puyoideae e Tillandsioideae), possui 3684 espécies, distribuídas em 79 gêneros (GOUDA et al, 2021 (cont. upd.)).

Bromeliaceae é a maior família dentro das angiospermas que detém ocorrência predominantemente neotropical, nativa da América Central à América do Sul, apenas a espécie *Pitcairnia feliciana* (A.Chev.) Harms & Mildbr., nativa para o continente Africano. A família é descrita como a segunda maior em número de espécies epifíticas, sendo Orchidaceae a primeira (GIVNISH et al., 2014). O Brasil configura a maior riqueza do grupo, 1379 espécies, sendo 1179 endêmicas, distribuídas em 56 gêneros, 24 endêmicos, com o maior número de táxons descritos para o Biomas Floresta Atlântica seguido pelo Bioma Cerrado (FORZZA et al., 2020).

Representada por plantas herbáceas epifitas, rupícolas ou terrestres, apresentando poucos centímetros até lenhosas de grande porte. Caracterizada por apresentar caule curto, raramente desenvolvido, folhas alternas-espíraladas em roseta ou mais raramente alternas-dísticas. As raízes podem ser absorventes nas plantas terrestres ou fixadoras nas epifitas. Inflorescência simples ou composta, na maioria dos casos terminal, raramente axilar, em geral com brácteas vistosas, com poucas a muitas flores densa a laxas, raramente com flores solitárias (FORZZA et al. 2020; WANDERLEY et al., 2007).

O estudo mais atual da família para o Brasil, realizado por Forzza et al. (2020) aponta 56 gêneros, 24 endêmicos, 1379 espécies, 1178 endêmicas e 10 subespécies, sendo 9 endêmicas, sendo a segunda maior família de espécies ameaçadas de extinção.

### **O Gênero *Tillandsia***

Dentro da família Bromeliaceae, subfamília Tillandsioideae, *Tillandsia* é o maior gênero com 764 espécies descritas (GOUDA et al, 2021 (cont. upd.)). Distribuídas na região neotropical, (BARFUSS, et al. 2016). As espécies de *Tillandsia* possuem tamanhos variáveis, epifíticas, rupícolas ou raramente terrestres, xeromórficas com folhas suculentas, mesomórficas ou semi-xeromórficas. O caule pode ser curto ou bem desenvolvido com presença ou ausência de ramificações. As folhas podem ser polísticas, rosuladas ou dísticas, liguladas, triangulares, lineares ou filiformes, eretas, secundas, reflexas ou as internas eretas e as externas reflexas, verdes ou densamente cinéreo-lepidotas, membranáceas, suculentas ou rígidas, base da roseta bulbiforme ou não. Flores dísticas ou polísticas, em inflorescências simples ou compostas, raramente uniflora; pétalas de cores variadas (amarelas, esverdeadas, brancas, lilases, azuis,

róseas, vermelhas ou alaranjadas), livres, geralmente formando uma corola tubular, com lâminas eretas, recurvadas ou revolutas, com ou sem apêndices basais; estames inclusos ou exsertos da corola, filetes livres, eretos ou plicados; grãos de pólen sulcados com exina geralmente reticulada; ovário ínfero, óvulos obtusos. (BARFUSS et al. 2016; TARDIVO et al., 2020).

*Tillandsia* está dividido em 7 subgêneros: *T. subg. Aerobia* Mez, *T. subg. Anoplophytum* (Beer) Baker, *T. subg. Diaphoranthema* (Beer) Baker, *T. subg. Phytarrhiza* (Vis.) Baker, *T. subg. Pseudovriesea* Barfuss & W. Till, *T. subg. Tillandsia* e *T. subg. Viridantha* (Espejo) W.Till & Barfuss (BARFUSS et al.,2016). No Paraná são citadas 17 espécies, distribuídas em 4 subgêneros, a maioria encontrada na região dos Campos Gerais (Kremer, 2011). Para o PEVV são citadas 11 espécies, entre elas, *T. lorentziana* Griseb. (subg. *Anoplophytum*), *T. crocata* (E. Morren) Baker e *T. streptocarpa* Baker (subg. *Phytarrhiza*) espécies xerofíticas predominantes nos paredões rochosos do Parque (TARDIVO; CERVI, 2001).

*Tillandsia crocata* (Figura 2- A): Plantas isoladas ou em pequenas touceiras, rupícola, xerofítica, com 15 a 40 cm de altura. **Caule** curto conspícuo, rizomatoso. **Folhas** dísticas, patentes ou recurvas, com ápice ereto, densamente lepidotas; **lâminas foliares** estreitas, cilíndricas, involutas, subuladas, triangulares, reflexadas, densamente lepidotas, com a presença de tricomas assimétricos; **bainhas** ovais, pouco alargadas. **Escapo da inflorescência** filiforme, densamente lepidoto, ereto, delgado, tomentoso, ultrapassando as folhas. **Inflorescência** simples com 2-6 flores dísticas; **brácteas florais** ovais, semelhantes às sépalas; **sépalas** lanceoladas, assimétricas, conatas na base; **pétalas** com lâminas obtusas, odoríferas de coloração amarelo-ouro; **estames** inclusos, excedendo o estilete; **óvulo** elíptico; **fruto** cápsula cilíndrica. (Tardivo et al. 2020; KREMER, 2011; TARDIVO; CERVI, 2001; WANDERLEY et al., 2007). Período de floração descrito para outubro-abril (TARDIVO; CERVI, 2001). *Tillandsia crocata* apresenta-se distribuída desde a Bolívia, Uruguai, Brasil, até o sul da Argentina. No Brasil ocorre do Rio de Janeiro ao Rio Grande do Sul. No estado do Paraná a espécie pode ser encontrada nos municípios de Carambeí, Palmeira, Piraí do Sul, Ponta Grossa e Tibagi, forma densas populações em afloramentos rochosos dos Campos Gerais (KREMER, 2011).

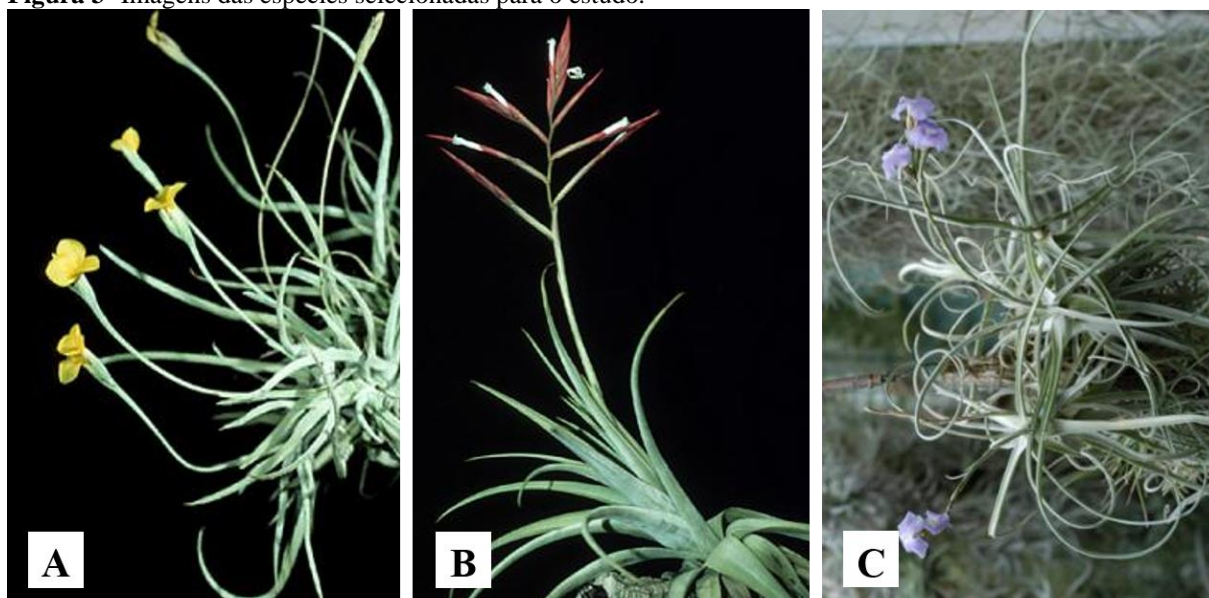
*Tillandsia lorentziana* (Figura 2- B). Espécie rupícola, xerofítica, ocasionalmente epifítica, isolada ou formando touceiras, com aproximadamente 20 a 60 cm de altura quando

florida. **Caule** curto, rizoma. **Folhas** polísticas, as internas eretas e as externas reflexas, cobertas por escamas extensas cinzentas ou acastanhadas; **lâminas foliares** estreitamente triangulares, longamente atenuadas; **bainhas** achatadas. **Inflorescência** simples ou composta do tipo racemo ou duplo racemo, com 7-8 flores dísticas; **escapo** ereto, levemente recurvado, coloração verde, glabro; **brácteas** imbricadas, triangulares acuminadas, coloração verde, vinosas em direção ao ápice, lepidotas. **Brácteas florais** de coloração róseas, lanceoladas, eretas, maiores que o comprimento das sépalas. **Flores** curtas-pediceladas; **sépalas** simétricas, oblongas, agudas, levemente conatas na base, carenadas, de coloração avermelhada, glabras; **pétalas** eretas, elípticas, margens levemente sinuosas, brancas; **estames** inclusos, filetes livres e achatados, anteras lineares, dorsifixas, estilete branco, estigma simples ereto, branco; **ovário** elíptico; **frutos** capsulares (TARDIVO; CERVI, 2001; KREMER, 2011; TARDIVO et al., 2020). Período de floração descrito para dezembro- maio (TARDIVO; CERVI, 2001). *Tillandsia lorentziana* tem distribuição descrita para Bolívia, Paraguai, Argentina e Brasil. No Brasil a ocorrência é descrita para os estados Rio grande do Sul e Paraná. No estado do paraná é encontrada somente na região dos Campos Gerais, nos municípios de Ponta Grossa, Carambeí e Tibagi. O PEVV em Ponta Grossa é o local de maior ocorrência da espécie no Brasil. (TARDIVO; CERVI, 2001; KREMER, 2011)

*Tillandsia streptocarpa* (Figura 2- C): Planta rupícola ou epifítica, xerofítica, de 10 a 70 cm de altura. **Caule** curto conspícuo. **Folhas** polísticas ao longo do caule, as externas recurvadas; **lâminas foliares** lineares triangular, ápice longo atenuado, tomentosas, densamente lepidoto; **bainhas** ovais, imbricadas ao longo do caule, densamente lepidotas. **Escapo floral** ereto, glabro, ultrapassando as folhas, brácteas lanceoladas, com ápice aristado, conduplicadas, imbricadas, as basais foliáceas, densamente lepidotas. **Inflorescências** simples ou composta, em espigas, eretas, flores dísticas, complanadas; **brácteas** lanceoladas, agudas, ligeiramente mais curtas que sépalas, glabras ou lepidotas de coloração esverdeada- rósea. **Flores** sésseis, dísticas, odoríferas; **sépalas** livres ou conatas, simétricas, oblongas, ápice agudo a obtuso, geralmente glabras; **pétalas** vistosas de coloração violetas ou azuis, espatuladas, ápice obtuso, lâminas largas; **estames** livres, inclusos, excedendo o estilete, anteras dorsifixas; **ovário** oval; **frutos** capsulares, cilíndricos (TARDIVO; CERVI, 2001; WANDERLEY et al., 2007; KREMER, 2011; TARDIVO et al., 2020) Período de floração descrito para janeiro-maio (TARDIVO; CERVI, 2001). O táxon *Tillandsia streptocarpa* é registrada para a Bolívia, Peru, Paraguai e Brasil, encontrada nas regiões nordeste, sudeste e sul. No estado do Paraná ocorre

em Arapoti, Carambeí, Leópolis, Ortigueira, Ponta Grossa, Porto Rico, São Jerônimo da Serra e Tibagi, geralmente como rupícola nos afloramentos rochosos dos Campos Gerais e menos frequente no Norte do Paraná, como epífita (KREMER, 2011).

**Figura 3-** Imagens das espécies selecionadas para o estudo.



**Legenda:** A- *Tillandsia crocata*; B *Tillandsia lorentziana* -; C- *Tillandsia streptocarpa*

**Fonte:** Adaptada de Gouda, Butcher e Gouda (2021) “Encyclopaedia of Bromeliads”, Version 4. <<http://bromeliad.nl/encyclopedia/> University Botanic Gardens, Utrecht (accessed: [02 de set. 2021])>

Segundo o descrito no estudo de Tardivo e Cervi (2001) as três espécies de *Tillandsia* apresentam períodos de floração sobrepostos nos meses de dezembro-abril (Quadro 1).

**Quadro 1-** Sobreposição do período de floração das espécies *T. crocata*, *T. lorentziana* e *T. streptocarpa*

M Sp.	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
T. c.												
T. l.												
T. s.												

**Fonte:** Adaptado de Tardivo e Cervi (2001) < Bromeliads of the State Park of Vila Velha, Ponta Grossa, Paraná, Brazil.>

### 3.3. Estudos Reprodutivos

#### 3.3.1. Fenologia reprodutiva

A observação e descrição da fenologia reprodutiva das espécies selecionadas para este estudo será realizada entre dezembro/2021 a dezembro/2022. A metodologia para a avaliação fenológica das espécies será procedida qualitativamente (análise das épocas em que ocorre a



fenofase), conforme Fournier (1974). Os indivíduos serão previamente marcadores (n=20indivíduos/espécie), sendo posteriormente amostrados.

Serão considerados os eventos de floração quando pelo menos metade dos indivíduos marcados possuírem flores abertas, e as frutificações quando a mesma proporção de indivíduos possuírem frutos maduros. Os dados permitirão inferir informações sobre os períodos de floração e frutificação, permitindo evidenciar possíveis barreiras temporais da fenologia da floração entre as espécies estudadas.

### **3.3.2. Visitantes florais**

Os visitantes florais serão observados e fotografados em campo, sendo verificados a frequência e comportamento ao longo do período de antese da flor durante a estação de floração, totalizando 20 horas de observação para cada espécie selecionada para este estudo. Também serão realizadas coletas dos insetos que visitarem as flores com rede entomológica (mediante autorização de coleta ao SISBIO), estes serão sacrificados com acetato de etila e encaminhados para identificação por especialistas e depositados no Museu de Entomologia Pe. Jesus S. Moure (DZUP). De acordo com o comportamento apresentado, os visitantes serão considerados polinizadores (DAFNI, 1992) ou pilhadores (INOUYE, 1980).

### **3.3.3. Estudo da viabilidade de pólen**

Para este estudo, serão utilizados 3 botões florais para cada indivíduo em pré-antese, coletados em campo das 3 populações (1pop/espécie), cerca de 10 indivíduos cada população. A técnica de esmagamento das anteras, determinada por Guerra e Souza (2002), será aplicada no preparo das lâminas. O material será corado com carmim acético 1%.

Para cada botão, serão utilizadas 4 anteras (duas maiores e duas menores), preparando duas lâminas para cada botão (uma antera maior e uma antera menor por lâmina), totalizando 6 lâminas por indivíduo. Serão avaliados 400 grãos de pólen por lâmina (200 para cada antera) e serão analisadas após 24 horas do preparo, tempo suficiente para que o corante possa agir nos grãos de pólen, colorindo-os.

Na sequência, as lâminas serão analisadas em microscópio óptico no aumento de 40X. Os grãos de pólen corados com carmim acético quando viáveis apresentarão coloração vermelha e

os não corados ou com morfologia anômala serão considerados inviáveis. A viabilidade polínica será estimada por meio da porcentagem de grãos de pólen viáveis. Os dados serão submetidos a uma análise de variância seguida de Teste de Tukey (com correções de bonferroni) para verificar a variação de pólen viável tanto dentro das espécies quanto entre elas.

### 3.3.4. Cruzamentos recíprocos

Em cada cruzamento será utilizado um par de indivíduos (n=10 pares), selecionados pela presença de uma flor saudável em cada um deles. Serão formadas três combinações entre as três espécies estudadas (*T. crocata*, *T. lorentziana*, e *T. streptocarpa*). Todos os cruzamentos serão realizados de forma bidirecional, isto é, cada indivíduo irá tanto doar quanto receber pólen do seu parceiro. Em cada cruzamento a flor demarcada terá seu pólen removido e transferido para o estigma de uma flor do seu parceiro. As flores polinizadas terão seu desenvolvimento acompanhado nos meses subsequentes para que se possa verificar a formação dos frutos (GOUVEIA; PINHEIRO, 2015). Esquema de cruzamentos representados no quadro 2.

Quadro 2- sistema de cruzamento entre as espécies.

TRATAMENTOS	ABREVIACÕES
Controle	CONT
Autopolinização Espontânea	AE
Polinização Cruzada <i>T. crocata</i> - <i>T. lorentziana</i>	PCTCTL
Polinização Cruzada <i>T. crocata</i> - <i>T. streptocarpa</i>	PCTCTS
Polinização Cruzada <i>T. lorentziana</i> - <i>T. crocata</i>	PCTLTC
Polinização Cruzada <i>T. streptocarpa</i> - <i>T. crocata</i>	PCTSTC
Polinização Cruzada <i>T. lorentziana</i> - <i>T. streptocarpa</i>	PCTLTS
Polinização Cruzada <i>T. streptocarpa</i> - <i>T. lorentziana</i>	PCTSTL

Fonte: Elaborado pelos autores (2021).

### 3.3.5. Cálculos de viabilidade e índices de isolamento

Para calcular a viabilidade dos frutos e das sementes, utilizaremos dois índices, o IRF e o IRS, respectivamente. O índice de isolamento reprodutivo na etapa de formação de frutos (IRF), será calculado como 1 menos a viabilidade dos frutos ( $IRF = 1 - [\text{número frutos viáveis} \div \text{número de flores polinizadas}]$ ). Isso para cada categoria de tratamento realizado em cruzamentos recíprocos (PCTCTL; PCTLTS; PCTSTC).

O índice de isolamento reprodutivo no estágio de formação de sementes viáveis (IRS) será calculado como sendo ( $IRS = 1 - [\text{número de sementes viáveis} \div \text{número total de sementes amostradas}]$ ). Da mesma forma que nos frutos, a porcentagem de sementes viáveis vai ser obtida

a partir da razão entre o número de sementes viáveis e o número total de sementes computada em cada categoria de cruzamento, como já citado acima.

Para se obter um único índice de isolamento correspondente as etapas de formação de frutos e semente viáveis, os índices de isolamento IRF e IRS irão ser combinados formando o IRFS (Índice de Isolamento Reprodutivo combinado nos estágios de formação de Fruto e Semente), com a seguinte fórmula, ( $IRFS = IRF + [(1 - IRF) \times IRS]$ ). No novo índice o IRF vai ser somado integralmente ao valor do IRS multiplicado por 1 menos IRF. Assim, levando em consideração que a formação de frutos atuará primeiro na sequência de eventos na reprodução e que o IRS atuará limitando apenas o número de descendentes formados a partir dos frutos viáveis ( $1 - IRF$ ).

Deste modo, os índices de isolamento calculados poderão ter valores que vão de “0 a 1”. O valor “0” quer dizer que não há isolamento reprodutivo, isto é, a fertilidade é máxima nesta fase da reprodução e o maior número possível descendentes poderiam ser formados entre os parentais. Já os índices com valor de “1” significa isolamento total, ou seja, este estágio da reprodução não é viável e representa por si próprio uma importante barreira reprodutiva agindo no isolamento reprodutivo dos grupos analisados (SCOPECE et al., 2008; GOUVEIA, 2015).

### **3.3.6. Viabilidade das sementes e taxa de germinação**

Os frutos serão coletados e serão coletados e abertos para contagens das sementes. As sementes retiradas de cada fruto ficarão mantidas sob refrigeração a 4° C por no máximo 7 dias. A viabilidade das sementes formadas será avaliada pelo teste do tetrazólio, neste teste as sementes são imersas em solução 1% de 2,3,5-trifenil tetrazólio e mantidas por 24 horas em temperatura de 30°C. Os embriões viáveis apresentam uma forte coloração vermelha e podem ser facilmente diferenciados dos embriões inviáveis, estes são identificados pela presença da testa da semente sem conteúdo ou contendo um embrião não colorido em vermelho (GOUVEIA; PINHEIRO, 2015).

### **3.3.7 Caracterização morfométrica e análise de dados**

Serão selecionados caracteres reprodutivos e vegetativos contínuos e discretos para todos os indivíduos, sendo os critérios definidos de acordo com o tratamento taxonômico (Quadro 3). Avaliaremos um total de 60 indivíduos, 20 indivíduos de cada espécie e

mensuraremos 33 atributos morfológicos quantitativos e qualitativos *in situ*, utilizando um paquímetro digital. Tanto os caracteres florais quanto os caracteres vegetativos serão medidos a partir de flores em início de antese e dos ramos mais expostos, respectivamente. Com o intuito de minimizar variações ambientais sobre os atributos (CORNELISSEN et al., 2003; PEREZ HARGUINDEGUY et al.; 2013).

Na sequência, verificaremos a influência entre os caracteres através de correlações de Spearman (rsp) para constatar possíveis variáveis redundantes (ZAR, 2010). Se houver uma correlação alta (rsp = 0.85, próxima a 0.90) entre pares de caracteres, usaremos apenas os dados contínuos nas análises multivariadas, excluindo assim, os dados categóricos.

Para avaliar as relações hierárquicas entre os grupos, será realizada uma análise de cluster com todos os caracteres morfológicos estudados, com base no algoritmo de agrupamento hierárquico UPGMA e usando o coeficiente de similaridade de Gower (1966). Em seguida, calcularemos o coeficiente de correlação cofenético (cofr) como uma indicação de quão ajustada era a árvore aos dados (SOKAL; ROHLF, 1962).

Para avaliar a existência de grupos, de acordo com os caracteres, será utilizada uma análise de coordenadas principais (PCO) baseada em nos caracteres contínuos (SNEATH; SOKAL 1973; LEGENDRE; LEGENDRE 2003). O número de eixos informativos será definido de acordo com o critério de quebra de brocken-Stick (FRONTIER, 1976).

Por fim, reuniremos a variação morfológica, sem considerar informação relativa ao habitat individual, através de uma análise de componentes principais (PCA) com uma matriz de correlação (SNEATH; SOKAL, 1973). Esta análise tem por objetivo identificar a variação total que determina o padrão encontrado e os caracteres que mais colaboram para os agrupamentos detectados. Serão escolhidos eixos de acordo com o critério de brocken-Stick (FRONTIER, 1976).

#### **4. RESULTADOS ESPERADOS**

Espera-se, com a conclusão desse projeto de dissertação compreender a biologia reprodutiva das três espécies de bromélias focos do estudo, bem como suas estratégias reprodutivas, polinizadores envolvidos, descrever as características morfológicas de cada uma das espécies e constatar a possível ocorrência de troca interespecífica de pólen, destacando com

esse estudo a importância de estudos de hibridação na região subtropical da América do Sul. Almeja-se que os resultados possam contribuir para o entendimento da ocorrência de indivíduos com morfologia híbrida entre as espécies *Tillandsia crocata*, *Tillandsia lorentziana* e *Tillandsia streptocarpa*. Espera-se inferir possíveis zonas híbridas para a região subtropical, com base neste estudo primário no Parque Estadual do Vila Velha. Pretende-se ainda, divulgar os resultados obtidos no Seminário em Botânica da UFPR e no Congresso Brasileiro de Botânica, e publicar no mínimo 2 artigos científicos.

## 5. CRONOGRAMA

Atividades	2021					2022												2023								
	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	J	F	M	A	M	J	J	A	
Levantamento Bibliográfico																										
Elaboração do Projeto																										
Coleta de dados em Campo																										
Atividades em Laboratório																										
Análise dos Dados																										
Entrega do Relatório de 12 Meses																										
Entrega do Relatório de 18 Meses																										
Congresso Nacional de Botânica	?																									
X Seminário em Botânica – UFPR																										
Submissão do artigo científico resultante da dissertação																										
Escrita da Dissertação																										
Defesa da Dissertação																										

## 6. VIABILIDADE DO PROJETO

Durante o desenvolvimento deste trabalho contaremos com a contribuição da Prof. Dra. Rosângela Capuano Tardivo como coorientadora, a qual é especialista em sistemática de Bromeliaceae, atua como professora vinculada ao Departamento de Biologia Geral da UEPG e é atual curadora do Herbário da UEPG (HUPG).

Faremos uma parceria com o HUPG, do qual utilizaremos o acervo para consultas e as instalações para os procedimentos de herborização do material coletado. As análises laboratoriais serão realizadas no laboratório M41 do Departamento de Biologia Geral (DEBIO), Setor de Ciências Biológicas e da Saúde (SEBISA) da UEPG. O deslocamento até o campo será realizado com auxílio de um veículo disponibilizado para o HUPG semanalmente pelo Setor de

Transportes da UEPG. A observação e coleta de material em campo estarão sob a licença 308/11 do Instituto Água e Terra (IAT), expedida pela coorientadora deste projeto.

## 7. REFERÊNCIAS

BARRETT, S.CH; HARDER, L.D. (2017) The ecology of mating and its evolutionary consequences in seed plants. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 48, p. 135-157.

CAMPBELL, D. R. (2004) Natural selection in *Ipomopsis* hybrid zones: implications for ecological speciation. **New Phytologist**, v. 161, n. 1, p. 83-90.

CAMPOS, J. B.; DALCOMUNE, M. A. (2011) O Parque Estadual de Vila Velha. In: CARPANEZZI, O. T.; CAMPOS, J. B. Coletânea de pesquisas: Parques Estaduais de Vila Velha, Cerrado e Guartelá. Curitiba: Instituto Ambiental do Paraná, p. 15 – 22.

CERVI, A.C., VON LINSINGEN, L., HATSCHBACH, G.; RIBAS, O.S. (2007) A Vegetação do Parque Estadual de Vila Velha, Município de Ponta Grossa, Paraná, Brasil. **Boletim do Museu Botânico Municipal**, 69:1-52.

CORNELISSEN, J.H.C. et al. (2003) Um manual de protocolos para medição padronizada e fácil de características funcionais de plantas em todo o mundo. **Jornal australiano de Botany**, v. 51, n. 4, p. 335-380.

DAFNI, A. (1992). *Pollination ecology: a practical approach* University Press, New York.

DAFNI, A.; KEVAN, P. G. & HUSBAND B. C. (2005) **Practical pollination biology**. Cambridge: Enviroquest. 590p.

FOLK, R.A.; SOLTIS, P.S.; SOLTIS, D.E.; GURALNICK, R. (2018). New prospects in the detection and comparative analysis of hybridization in the tree of life. **American Journal of Botany**, v. 105, n. 3, p. 364-375.

FOURNIER, L.A. (1974) Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. **Turrialba**, v.24, p.422-423.

FRONTIER, S. (1976) Étude de la décroissance des valeurs propres dans une analyse en composantes principales: Comparaison avec le modèle du bâton brisé. **Journal of experimental marine Biology and Ecology**, v. 25, n. 1, p. 67-75.

GARDNER, C. S. (1986) Inferences about pollination in *Tillandsia* (Bromeliaceae). **Selbyana**, p. 76-87.

GIVNISH, T. J.; BARFUSS, M. H. J.; RINA, R.; SCHULTE, K.; HORRES, R.; GONSISKA, P. A.; JABAILY, R. S.; CRAYN, D. M.; SIMTH, J. A. C.; WINTER, K.; BROWN, G. K.; EVANS, T. M.; HOLST, B. K.; LUTHER, H.; TILL, W.; ZIZKA, G.; BERRY, P. E.; SYTSMA, K. J. (2011) Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in

Bromeliaceae: Insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany*, New York, v. 98, n. 5, p. 872-895.

GIVNISH, T. J.; BARFUSS, M. H. J.; VAN, E. E. 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. E.; SYSTMA, K. J. (2014) Adaptive radiation, correlated and contingent evolution, and net species diversification in Bromeliaceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, San Diego, v. 71, p. 55-78.

GOLVEIA, T.M.Z.M.; PINHEIRO, F. (2015) Reciprocal crosses as a tool to evaluate the reproductive isolation in a Orchidaceae hybrid zone. **Revista da Biologia**, v. 14, n. 1, p. 17-23.

GOUDA, E.J.; BUTCHER, D.; GOUDA, C.S. (cont.updated) *Encyclopaedia of Bromeliads, Version 4*. <http://bromeliad.nl/encyclopedia/> **University Botanic Gardens**, Utrecht (accessed: [19-10-2021]).

GOUVEIA, T. M. Z. M.; PINHEIRO, F. (2015) Experimentos de cruzamentos recíprocos como ferramenta para avaliar o isolamento reprodutivo numa zona de hibridação natural da família Orchidaceae Juss. **Revista da Biologia**, [s.l.], v. 14, n. 1, p.17-23

GUERRA, M.; SOUZA, M.J. (2002) Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC. 131p.

INOUE, D. W. (1980) The terminology of floral lacerny. **Ecology**, v.61, p. 1251-1253.

INSTITUTO AMBIENTAL DO PARANÁ - IAP **Plano de Manejo** - Parque Estadual de Vila Velha, 2004 < <http://www.iat.pr.gov.br/Pagina/Plano-de-Manejo-Parque-Estadual-de-Vila-Velha>>

KAEHLER, M.; VARASSIN, I.G.; GOLDENBERG, R. (2005) Polinização em uma comunidade de bromélias em Floresta Atlântica Alto-montana no Estado do Paraná, Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 28, p. 219-228.

KREMER, D. (2011) O GÊNERO TILLANDSIA L. (BROMELIACEAE-TILLANDSIOIDEAE) NO ESTADO DO PARANÁ, BRASIL. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa- PR, Brasil, 2011, 165 p.

LABIAK, P.H.E. (2014) Aspectos fitogeográficos do Paraná. In: Kaehler M (eds) Plantas

LEGENDRE, P.; L. LEGENDRE (1998) Numerical Ecology. Elsevier, Amsterdam. 853p.

LOWRY, D.B.; MODLISZEWSKI, J.L.; WRIGHT, K.M.; WU, C.A.; WILLIS, J.H. (2008). The strength and genetic basis of reproductive isolating barriers in flowering plants. *Philosophical transactions of the Royal Society of London (Series B: Biological sciences)*, v. 363, n. 1506, p. 3009-3021.

LUTHER. H. E. (2014) An alphabetical list of Bromeliad binomials. 13. ed. Sarasota, FL: **The Marie Selby Botanical Gardens**; The Bromeliad Society International.



MACHADO, C.G.; SEMIR, J. (2006) Fenologia da floração e biologia floral de bromeliáceas ornitófilas de uma área da Mata Atlântica do Sudeste brasileiro. **Brazilian Journal of Botany**, v. 29, p. 163-174.

MAIA, F.R.; GOLDENBERG, R.; SILVA-PEREIRA, V. (2017) The effect of time and space in the evolution of a restricted taxon to subtropical grasslands of South America. TESE.

MALLET, J. (2007). Hybrid speciation. **Nature**, v. 446, n. 7133, p. 279-283.

MATALLANA, G.; GODINHO, M.A.S.; GUILHERME, F.A.G.; BELISARIO, M.; COSER, T.S.; WENDT, T. (2010). Breeding systems of Bromeliaceae species: evolution of selfing in the context of sympatric occurrence. **Plant systematics and evolution**, v. 289, n. 1, p. 57-65.

MELO, M.D.; MORO, R.S.; GUIMARÃES, G.B. (2007). Patrimônio natural dos campos gerais do Paraná. Ponta Grossa: Editora UEPG, 221-227.

MITCHELL, R.J.; FLANAGAN, R.J.; BROWN, B.J.; WASER, N.M.; KARRON, J.D. (2009) New frontiers in competition for pollination. **Annals of botany**, v. 103, n. 9, p. 1403-1413.

MORJAN, C.L.; RIESEBERG, L.H. (2009) How species evolve collectively: implications of gene flow and selection for the spread of advantageous alleles. **Molecular ecology**, v. 13, n. 6, p. 1341-1356, 2004.

MOTA, M.R.; PINHEIRO, F.; LEAL, B.S.S.; WENDT, T.; PALMA-SILVA, C. (2019) The role of hybridization and introgression in maintaining species integrity and cohesion in naturally isolated inselberg bromeliad populations. **Plant Biology**, v. 21, n. 1, p. 122-132.

MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A.; KENT, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n.6772, p.853-858.

PAGGI, G.M.; PALMA-SILVA, C.; SILVEIRA, L.C.T.; KALTCHUK-SANTOS, E.; ZANETTINI, M.H.B.; BERED, F. (2007) Fertility of *Vriesea gigantea* Gaud.(Bromeliaceae) in southern Brazil. **American Journal of Botany**, v. 94, n. 4, p. 683-689.

PALMA-SILVA, C.; LEAL, B.S.S.; CHAVES, C.J.N.; FAY, M.F. (2016) Advances in and perspectives on evolution in Bromeliaceae. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 181, n. 3, p. 305-322.

PALMA-SILVA, C.; WENDT, T.; PINHEIRO, F.; BARBARÁ, T.; FAY, M.F.; COZZOLINO, S.; LEXER, C. (2011) Sympatric bromeliad species (*Pitcairnia* spp.) facilitate tests of mechanisms involved in species cohesion and reproductive isolation in Neotropical inselbergs. **Molecular Ecology**, v. 20, n. 15, p. 3185-3201.

PEREZ-HARGUINDEGUY, N. et al. (2013) New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. **Aust. Bot.** v.61, p.167–234.

PETIT R.J.; EXCOFFIER L. (2009) Gene flow and species delimitation. **Trends in Ecology and Evolution**, 24, 386–393



Phylogeny Group, M. W. CHASE, M. J. M. CHRISTENHUSZ, M. F. FAY, J. W. BYNG, W. S. JUDD, D. E. SOLTIS, D. J. MABBERLEY, A. N. SENNIKOV, P. S. SOLTIS, P. F. STEVENS. (2016) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV, **Botanical Journal of the Linnean Society**, V. 181, n. 1, p. 1–20.

PINHEIRO, F.; COZZOLINO, S.; BARROS, F.; GOUVEIA, T.M.Z.M.; SUZUKI R.M.; FAY, M.F.; PALMA-SILVA, C. (2013). Phylogeographic structure and outbreeding depression reveal early stages of reproductive isolation in the neotropical orchid *Epidendrum denticulatum*. *Evolution* 67: 2024–2039. pp. 7-22.

RIESEBERG, L. H.; WILLIS, J. H. (2007). Plant speciation. **science**, v. 317, n. 5840, p. 910-914

RIESEBERG, L. H.; WOOD, T.E.; BAACK, E. J.(2006). The nature of plant species. **Nature**, v. 440, n. 7083, p. 524-527.

RIESEBERG, L.H. Hybrid speciation in wild sunflowers I. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 93, n. 1, p. 34-48.

RIESEBERG, L.H.; WHITTON, J.; GARDNER, K. (1999) Hybrid zones and the genetic architecture of a barrier to gene flow between two sunflower species. **Genetics**, v. 152, p. 713–727.

SCOPECE, G.; WIDMER, A.; COZZOLINO, S. (2008). Evolution of postzygotic reproductive isolation in a guild of deceptive orchids. **The American Naturalist**, n.171:315-326.

SCOPECE, G.; PALMA-SILVA, C.; CAFASSO, D.; LEXER, C.; COZZOLINO, S. (2006) Phenotypic expression of floral traits in hybrid zones provides insights into their genetic architecture. **New Phytologist**, v. 227, n. 3, p. 967-975, 2020.

SCROK, G.J.; VARASSIN, I.G. (2011) Reproductive biology and pollination of *Aechmea distichantha* Lem.(Bromeliaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 25, p. 571-576.

SNEATH, P.H.; SOKAL, R.R. (1973) Taxonomia numérica: os princípios e práticas de classificação numérica. **São Francisco: WH Freeman**.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. (1962) A comparação de dendrogramas por métodos objetivos. **Taxon**, v. 11, n. 2, pág. 33-40,.

SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D.E. (2009) The role of hybridization in plant speciation. **Annual review of plant biology**, v. 60, p. 561-588.

STEVENS, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since].will do.<  
<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>>

TALORA, D.C.; MORELLATO, P.C. (2000) Fenologia de espécies arbóreas em floresta de planície litorânea do sudeste do Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 23, p. 13-26.

TARDIVO, R.C. & CERVI, A. C. (2001) Bromeliads of the State Park of Vila Velha, Ponta Grossa, Paraná, Brazil, Selbyana, Sarasota, vol. 22, n. 1, p. 68-74.

VARASSIN, I.G.; SAZIMA, M. (2000) Recursos de Bromeliaceae utilizados por beija-flores e borboletas em Mata Atlântica no Sudeste do Brasil. **Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão**, v. 11, n. 12, p. 57-70.

Vasculares do Paraná, Curitiba: Departamento de Botânica/UFPR, Paraná, Brasil,

VOSGUERITCHIAN, S.B.; BUZATO, S. (2006) Reprodução sexuada de *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer (Bromeliaceae, Pitcairnioideae) e interação planta-animal. **Brazilian Journal of Botany**, v. 29, p. 433-442.

WANDERLEY, M. G. L.; MARTINS, S. E., COORDS. (2007). Bromeliaceae. In: WANDERLEY, M. G. L., SHEPHERD, G. J.; MELHEM, T. S., GIULIETTI, A. M., (eds.) **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**, São Paulo, v. 5, p. 39-161

WENDT, T.; CANELA, M.B.F.; FARIA, A.P.G.; RIOS, R.I. (2001) Reproductive biology and natural hybridization between two endemic species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). **Am J Bot** 88:1760–1767

WENDT, T.; CANELA, M.B.F.; KLEIN, D.E.; RIOS, R.I. (2002) Selfing facilitates reproductive isolation among three sympatric species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). **Plant Syst Evol**, n.232, p. 201–212

WENDT, T.; COSER, T.S.; MATAALLANA, G.; GUILHERME, F.A.G. (2008) An apparent lack of prezygotic reproductive isolation among 42 sympatric species of Bromeliaceae in southeastern Brazil. **Plant Syst Evol**, n. 275, p.31–41

WIDMER, A.; LEXER, C.; COZZOLINO, S. (2009). Evolution of reproductive isolation in plants. **Heredity**, v. 102, n.1, p. 31-38.

WU, Chung-I. (2001) The genic view of the process of speciation. **Journal of evolutionary biology**, v. 14, n. 6, p. 851-865.

ZANELLA, CAMILA M.; JANKE, A.; PALMA-SILVA, C.; KALTCHUK-SANTOS, E.; PINHEIRO, F.G.; PAGGI, G.M.; SOARES, L.E.S.; GOETZE, M.; BÜTTOW, M. V.; BERED, F. (2012) Genetics, evolution and conservation of Bromeliaceae. **Genetics and molecular Biology**, v. 35, n. 4, p. 1020-1026.

ZAR, J.H. (2010) Biostatistical Analysis. 4 ed. Prentice-Hall,. p. 662.

## 8. ANEXOS

Quadro 3- Caracteres reprodutivos/vegetativos e estados de caracteres para avaliação morfométrica

CARACTERES	ESTADOS DE CARACTERES		
1. Forma de vida	[0] predominantemente epífita	[1] epífita ou rupícola	[2] exclusivamente rupícola
2. Disposição das folhas	[0] dísticas	[1] polísticas	
3. Direção das lâminas foliares	[0] eretas	[1] secundas	[2] as internas eretas e as externas reflexas [3] todas reflexas
4. Forma da lâmina foliar	[0] triangular	[1] cilíndrica	
5. Ápice das folhas	[0] ereto	[1] recurvo	
6. Altura da inflorescência			
7. Inflorescência	[0] simples	[1] composta	
8. Tipo de inflorescência	[0] espiga	[1] duplo racemo	
9. Número de flores na inflorescência			
10. Disposição das flores	[0] dísticas	[1] polísticas	
11. Comprimento da bráctea floral			
12. Forma da bráctea floral	[0] triangular	[1] oval	
13. Área da bráctea floral			
14. Comprimento das sépalas			
15. Forma das sépalas	[0] oblongas	[1] lanceoladas	
16. Área das sépalas			
17. Concrescência das sépalas	[0] livres	[1] conatas	
18. Simetria da corola	[0] Actinomorfa	[1] levemente zigomorfa	[2] zigomorfa
19. Tipo de corola	[0] aberta	[1] tubular	
20. Orientação da corola	[0] Ascendente	[1] descendente	[2] horizontal
21. Comprimento das pétalas			
22. Forma das pétalas	[0] linear-lanceolada	[1] espatulada	
23. Área da pétala			
24. Margem das pétalas	[0] sinuosa	[1] crenada	[2] inteira
25. Direção das pétalas	[0] eretas	[1] reflexas	[2] revolutas
26. Cor das pétalas	[0] brancas	[1] amarelas	[2] lilases
27. Comprimento do filete			
28. Filetes	[0] eretos	[1] plicados	
29. Cor do filete			
30. Comprimento das anteras			
31. Cor das anteras			
32. Inserção das anteras	[0] basifixas	[1] dorsifixas	
33. Tipo de estigma	[0] simples-ereto	[1] espiral-conduplicado	

Fonte: Elaborado pelos autores (2021).