

**Biologia reprodutiva e diversidade genética de  
*Dyckia distachya* Hassler (Bromeliaceae) como subsídio  
para conservação e reintrodução de populações  
extintas na natureza**

**Manuela Boleman Wiesbauer**

Universidade Federal de Santa Catarina  
Centro de Ciências Agrárias  
Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais

**Biologia reprodutiva e diversidade genética de  
*Dyckia distachya* Hassler (Bromeliaceae) como subsídio  
para conservação e reintrodução de populações  
extintas na natureza**

**Manuela Boleman Wiesbauer**

Orientador: Ademir Reis

Co-orientador: Maurício Sedrez dos Reis

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais

Florianópolis  
Santa Catarina – Brasil  
2008

Catálogo na fonte pela Biblioteca Universitária da  
Universidade Federal de Santa Catarina

W649b Wiesbauer, Manuela Boleman

Biologia reprodutiva e diversidade genética de *Dyckia distachya* Hassler (Bromeliaceae) como subsídio para conservação e reintrodução de populações extintas na natureza [dissertação] / Manuela Boleman Wiesbauer ; orientador, Ademir Reis. - Florianópolis, SC, 2008. 94 f.: il., grafs., tabs., mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais.

Inclui referências

1. Recursos genéticos vegetais. 2. Endogamia. 3. Planta reófita. 4. Espécie ameaçada de extinção. 5. Auto - Incompatibilidade. I. Reis, Ademir. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais. III. Título.

CDU 631

# TERMO DE APROVAÇÃO

## MANUELA BOLEMAN WIESBAUER

### BIOLOGIA REPRODUTIVA E DIVERSIDADE GENÉTICA DE *DYCKIA DISTACHYA* HASSLER (BROMELIACEAE) COMO SUBSÍDIO PARA CONSERVAÇÃO E REINTRODUÇÃO DE POPULAÇÕES EXTINTAS NA NATUREZA

Dissertação julgada e aprovada em 04/09/2008, em sua forma final, pelo Orientador e Membros da Comissão Examinadora, para obtenção do título de Mestre em Ciências. Área de Concentração Recursos Genéticos Vegetais, no Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina.

#### COMISSÃO EXAMINADORA:



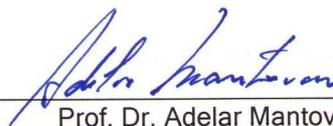
Prof. Dr. Ademir Reis  
Presidente e Orientador (CCB/UFSC)



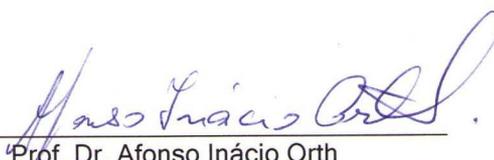
Prof. Dr. Maurício Sedrez dos Reis  
Membro (CCA/UFSC)



Prof. Dr. Alexandre Magno Sebbenn  
Membro (IFSP/SP)



Prof. Dr. Adelar Mantovani  
Membro (CAV/UDESC)



Prof. Dr. Afonso Inácio Orth  
Coordenador do Programa



## DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação a todos aqueles envolvidos com esta longa história chamada *Dyckia distachya*.

Dedico primeiramente aos amantes da Botânica que curiosos descreveram a espécie, coletaram. Imagine naquelas épocas... sem herbários *on line*.

Ao Hassler, ao Raitz, ao Klein, ao Winkler.

Ao nosso querido Bruno Irgang.

A todos aqueles que estavam a suprir suas necessidades... faziam o que acreditavam.

Dedico esta dissertação mesmo àqueles pra quem a *Dyckia* foi uma pedra o sapato.

Àqueles que a amaram, a acharam bonita e colocaram em seus jardins.

Àqueles lutaram por suas causas, e a usaram como um pretexto para isto.

Àqueles que a estudaram.

Àqueles que morreram por ela.

Principalmente ao Ademir Reis, que vê a beleza dela. Meu Deus, dentre todos, nunca vi alguém que consiga olhar tanto para ela e não se cansa...

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Ademir Reis, por de fato ter sido um orientador incrível, sempre cheio de novas idéias e sempre estimulando o crescimento pessoal e deste projeto como um todo.

Ao Maurício Sedrez dos Reis, que foi fundamental em diversas etapas deste trabalho e sempre atencioso e construtivo. Se concluí esta etapa, devo muito a você, nem sabes o quanto.

A minha querida “professora”, Karina Hmeljevsky, que foi sempre disposta a ajudar. Admiro muito você como personalidade e como profissional.

Ao Juliano Zago, pela ajuda no estabelecimento do protocolo de isoenzimas.

A Prica, com quem compartilhei momentos de aprendizagem na difícil tarefa das isoenzimas.

Ao Tiago Montagna, que teve paciência em longos períodos durante as corridas de Isoenzimas.

A tantos que me ajudaram no laboratório e no campo, às vezes mesmo de madrugada e final de semana. Obrigada a Caroline Voltolini, Talita Zimmerman, Taciane Finato, Luciane Pereira, Kurt Boursheid, Cássio Daltrini Neto, Bicudo Meregé.

Aos funcionários da Tractebel Energia Suez, também pelo apoio a campo e pelas informações relevantes, especialmente a Jusselei Perim e Francisco Miranda.

Aos funcionários da BAESA Energética S.A., pelo apoio logístico, especialmente Khadine Appio.

Aos funcionários da Bourscheid Engenharia e Meio Ambiente, que contribuíram nas idas a campo e com dados relevantes sobre o histórico da espécie. Obrigada especialmente a João Luiz de Nardin, Claudir Lutkemeier e Silvia Reis.

Ao Dr. André Victor Lucci Freitas (UNICAMP) e Marcelo Duarte do museu da USP, pela identificação das borboletas, ao Rafael Kamke, pela identificação das abelhas, e ao Vitor Q. Piacentini, pela identificação do beija-flor.

Ao pessoal no Núcleo de Pesquisas em Florestas Tropicais (NPFT) pelas tantas risadas e discussões agradáveis.

Aos colegas do Laboratório de Ecologia Florestal, que me acompanharam nos trabalhos criativos de fabricação de pôsteres e com quem passei muitos bons momentos de convívio.

A Lizi pela ajuda com os mapas, e por compartilhar dos momentos de alegria e agonia no final dessa dissertação.

A Vera, que foi fundamental para estabilidade emocional do Laboratório, e com quem adorei ter convivido nestes últimos tempos.

A CAPES pela concessão da Bolsa de Mestrado.

A Tractebel Energia Suez em conjunto com a ANEEL, pelo financiamento de parte da pesquisa pelo P&D “Reintrodução de *Dyckia distachya* nas áreas de influência das Hidrelétricas de Itá e Machadinho”.

A BAESA Energética, também pelo financiamento da pesquisa através do projeto “Biologia reprodutiva e diversidade genética de *Dyckia distachya* Hassler, no viveiro e relocações da UHE Barra Grande”

## SUMÁRIO

RESUMO e ABSTRACT .....	1
CAPÍTULO 1 - Histórico de extinção e resgate das populações de <i>Dyckia distachya</i> Hassler (Bromeliaceae): o papel dos diferentes atores no conhecimento e conservação da espécie .....	2
CAPÍTULO 2 - Guilda de polinizadores e efetividade de polinização em diferentes condições <i>ex situ</i> e morfologias florais de <i>Dyckia distachya</i> Hassler (Bromeliaceae) .....	27
CAPÍTULO 3 - Estudo de diversidade genética de <i>Dyckia distachya</i> Hassler (Bromeliaceae) como subsídio para conservação e reintrodução das populações extintas na natureza .....	60

## RESUMO

*Dyckia distachya* Hassler é uma bromélia exclusiva de ambientes reofíticos, como ilhas ou margens rochosas de corredeiras, ao longo do Rio Uruguai, fronteira entre Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Dentre as nove populações naturais conhecidas no Brasil, oito foram extintas localmente devido à construção das hidrelétricas de Itá, Machadinho e Barra Grande, em 2000, 2003 e 2005, respectivamente. Anteriormente ao enchimento das barragens, amostras das populações naturais foram resgatadas gerando diversas coleções e foram feitas algumas relocações experimentais. A partir do “fato consumado”, com a demanda de estabelecer uma estratégia de conservação para a espécie, foram realizados estudos de biologia reprodutiva e diversidade genética nas coleções das populações extintas na natureza. Os estudos de biologia reprodutiva indicaram que a espécie é auto-incompatível, possui floração anual desde setembro a janeiro; possui floração do tipo disponibilidade regular; sua morfologia floral é generalista, sendo polinizada por diversas guildas, incluindo beija-flores, abelhas e borboletas; e a polinização foi efetiva na maior parte dos locais de conservação, havendo a produção de sementes viáveis. Os indivíduos provenientes de Itá, Machadinho e Barra Grande apresentaram variações na morfologia floral, possuindo flores mais campanuladas e de coloração amarelada para Itá, flores tubulosas e avermelhadas para Barra Grande e flores de morfologia intermediária em Machadinho. A guilda de polinizadores também foi variável entre os diferentes locais de conservação e morfologias florais. Os estudos de diversidade genética indicaram que as coleções provenientes de Itá sofreram as maiores derivas genéticas, refletindo efeitos do processo histórico, em que o conhecimento técnico e as exigências de coleta foram crescentes à medida que foram sendo construídas as novas hidrelétricas. As plantas da região de Itá apresentaram as maiores divergências genéticas com relação à Machadinho e Barra Grande, que coincidiram com os dados de biologia floral. De acordo com os resultados obtidos, concluiu-se que as coleções de cada região (Itá, Machadinho e Barra Grande) não devem ser misturadas, devido à grande diferenciação natural entre elas, que poderia gerar efeitos negativos de exogamia. As coleções de Itá e Encanadinhos (de Barra Grande) devem ser enriquecidas com coleções dos mesmos locais, visando diminuir a endogamia e aumentar a diversidade nas coleções.

Palavras chave: Planta reófito; espécie ameaçada de extinção, auto-incompatibilidade, endogamia

## ABSTRACT

*Dyckia distachya* Hassler is a bromeliad exclusive from rheophytic environments such as islands or rocky shores of rapids along the Uruguay River, the boundary between Santa Catarina and Rio Grande do Sul. Among the nine known natural populations in Brazil, eight were locally extinct due to the construction of the hydroelectrics of Itá, Machadinho and Barra Grande in 2000, 2003 and 2005, respectively. Prior to the filling of dams, samples of natural populations were rescued generating several collections that were used to make some experimental relocations. From the "fait accompli", with the demand to establish a conservation strategy for the species, studies were performed about reproductive biology and genetic diversity in collections of populations that were extinct in the wild. Studies of reproductive biology indicated that the species is self-incompatible, has annual flowering from September to January, has flowering type of regular availability, its floral morphology is general, pollinated by several guilds, including hummingbirds, bees and butterflies, and pollination was effective in most places of conservation with the production of viable seeds. Individuals from Ita, Machadinho and Barra Grande showed variations in floral morphology, having more campanulate and yellowish flowers at Itá, tubular and red flowers at Barra Grande and intermediate flower morphology in Machadinho. The guild of pollinators also varied between the different conservation sites and floral morphologies. The genetic diversity studies indicated that the collections from Itá suffered the greatest genetic drift, reflecting effects of the historical process in which technical knowledge and gathering requirements were increasing as the new plants were being built. The plants in the region of Itá showed the largest genetic differences in relation to Machadinho and Barra Grande, which coincided with the floral biology data. According to the results, it was concluded that the collections of each region (Itá, Machadinho and Barra Grande) should not be mixed because of the large natural differentiation between them, which could generate negative effects of exogamy. Collections from Itá and Encanadinhos (Barra Grande) should be enriched with collections of the same locations in order to reduce inbreeding and increase diversity in the collections.

Key words: rheophytic plant, species in danger of extinction, self-incompatibility, inbreeding.

## CAPÍTULO 1

### **Histórico de extinção e resgate das populações de *Dyckia distachya* Hassler (Bromeliaceae): o papel dos diferentes atores no conhecimento e conservação da espécie**



**Salto Yucumã / RS**

## 1. INTRODUÇÃO

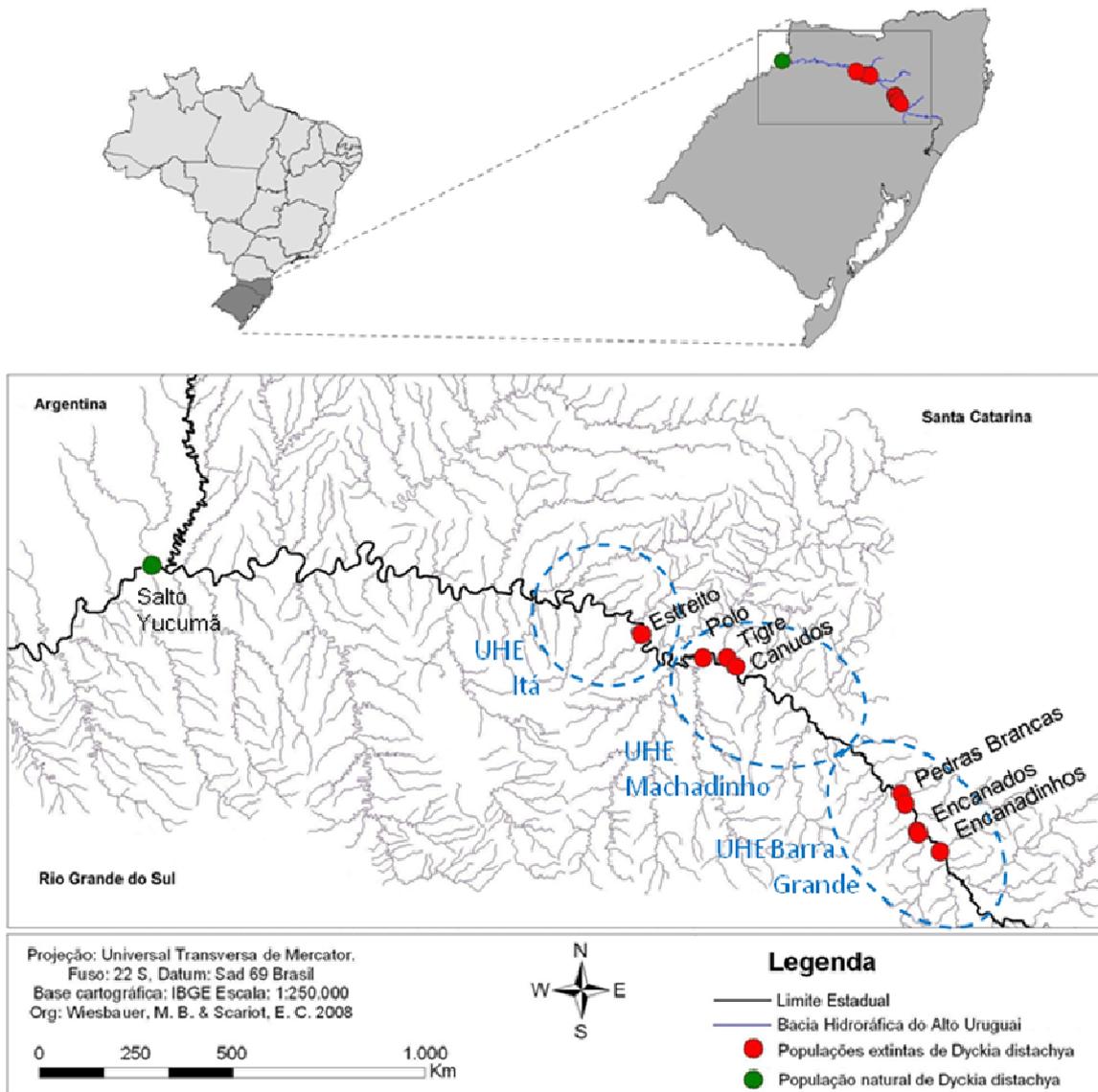
A *Dyckia distachya* pertence à família Bromeliaceae, que contém cerca de 2700 espécies descritas, praticamente exclusivas das Américas, e subfamília Pitcairnioideae, que compreende principalmente bromélias terrícolas e rupícolas (Benzing 2000). O gênero *Dyckia* inclui plantas suculentas adaptadas a ambientes áridos e expostos (Benzing 2000), inclusive espécies que ocorrem em margens e ilhas rochosas de corredeiras (Klein 1979, 1990).

As espécies com este hábito foram denominadas por Van Steenis (1932, 1981) como reófitas e foram caracterizadas como um “grupo biológico”, composto por espécies “recrutadas de famílias de plantas não relacionadas taxonomicamente e que apresentam adaptações similares, em vários níveis, ao seu nicho, leitos de corredeiras e margens de rios submetidas a enchentes regulares, sendo caracterizadas como plantas resistentes à correnteza” (Van Steenis 1981). Na época, o autor incluiu a sua lista a bromélia mexicana, *Pitcairnia punicea* Scheidweiler, como única representante reófitas da família Bromeliaceae (Van Steenis 1987). Já Klein (1979), em seu levantamento das espécies reófitas de Santa Catarina, incluiu três espécies de Bromeliaceae, todas do gênero *Dyckia*: *D. brevifolia*, *D. ibiramensis* e *D. distachya*. Além destas, a *D. microcalyx* no Rio Paraná (Forza 2005), *D. tuberosa* e duas outras espécies do gênero, provavelmente novas para a ciência, no Rio Uruguai (Reis *et al.* 2005), também foram registradas como reófitas.

O gênero *Dyckia* possui uma distribuição bastante ampla, ocorrendo desde a Patagônia argentina até a Floresta Amazônica (conforme Smith & Downs 1974). Entretanto, a adaptação ao reofitismo foi uma estratégia evolutiva exclusiva do sul do Brasil (Forza *com. pes.*) estendendo-se aos países vizinhos, Argentina e Paraguai.

Com o grande investimento do País em Usinas Hidrelétricas, as espécies reófitas passaram a ser um grupo de plantas muito impactado. A espécie *Dyckia distachya* ocorria de

forma esparsa na Bacia do rio Uruguai, possuindo ao menos nove populações disjuntas ao longo de 617 km do rio, e, em um período de cinco anos, teve a maior parte de suas populações extintas devido a empreendimentos hidrelétricos (Figura 1).



**Figura 1.** Localização das populações naturais de *Dyckia distachya* Hassler na Bacia Hidrográfica do Alto Uruguai, com e as áreas de influência direta das Usinas Hidrelétricas (UHE) de Itá, Machadinho e Barra Grande. As populações em vermelho foram extintas na natureza em 2000 (Itá), 2003 (Machadinho) e 2005 (Barra Grande).

Este capítulo teve o objetivo de reunir informações sobre o histórico da espécie desde as primeiras descrições botânicas até o processo de extinção e resgate das populações. Foram discutidas a evolução dos procedimentos de resgate das populações de *D. distachya* e os principais atores envolvidos neste processo.

## **2. MATRIZ ENERGÉTICA BRASILEIRA E A CONSERVAÇÃO**

Nos dias atuais, a matriz energética brasileira é essencialmente de aproveitamentos hidrelétricos. Em 2007, 74,7% da energia elétrica gerada no Brasil era proveniente de Centrais Hidrelétricas (>30 MW), 1,9% proveniente de Pequenas Centrais Hidrelétricas (<30 MW), 21,2% de Centrais Termelétricas, 2% de Usinas Termonucleares e 0,25% de Usinas Eólicas (ANEEL 2008).

Esta matriz energética deriva-se de uma política iniciada nos anos 60 em um contexto “desenvolvimentista” do governo militar, que era voltada principalmente para a construção de grandes projetos hidrelétricos, como Itaipu Binacional, Balbina, Sobradinho e Itaparica (Santos 2001). Nesta época a legislação ambiental no Brasil era bastante deficiente e a única legislação que disciplinava e orientava os aproveitamentos hidrelétricos eram o Código das Águas (Decreto nº 24.643, de 11 de julho de 1937). Questões ambientais propriamente ditas eram superficialmente abordadas pelo Estatuto da Terra (Lei nº 4.504, de 30 de novembro de 1964) e pelo Novo Código Florestal (Lei nº 4.771, de 15 de setembro de 1965).

No Rio Uruguai os aproveitamentos Hidrelétricos iniciaram a partir de uma política do final dos anos 70, com o “inventário hidrelétrico da bacia do Rio Uruguai”, que previa a implantação de 19 aproveitamentos. O “Projeto Uruguai” representou o primeiro desenho de aproveitamento integral do potencial energético de uma bacia no Brasil (Santos 2003).

Nos anos 80, com a redemocratização do país, o setor hidrelétrico passou a ter dificuldades de implantação de seus projetos, principalmente devido ao surgimento de movimentos sociais de atingidos por barragens (Comissão Regional dos Atingidos por Barragens), que surgiu em reação à implementação das barragens na Bacia do Rio Uruguai, e depois se transformou no Movimento de Atingidos por Barragens (MAB) que se espalhou pelo País (Santos 2003). Foram estabelecidas reorientações por parte dos organismos internacionais de financiamento. O Banco Mundial passou a defender a criação de departamentos de meio ambiente nas empresas do setor elétrico, e passou a condicionar os financiamentos à criação de legislações ambientais adequadas (Santos 2001). Esta década foi marcada pela elaboração de diversas legislações no setor do meio ambiente, com o estabelecimento da Política Nacional do Meio Ambiente (Lei nº 6.938, de 31 de agosto de 1981 – alterada pela Lei nº 7.804, de 18 de julho de 1989) – que criou o Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) e o Instituto Brasileiro de Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). Tornou-se obrigatória a realização de Estudos de Impacto Ambiental e de Relatórios de Impacto Ambiental (EIA-RIMA) (Resolução CONAMA nº 001, de 23 de janeiro de 1986), regulamentou-se os processos de licenciamento (Resolução CONAMA nº 006, de 16 de setembro de 1987) e garantiu-se a obrigatoriedade de audiências públicas (Resolução CONAMA nº 009, de 03 de dezembro de 1987) nos processos de licenciamento de grandes obras.

Na década de 90 foram vivenciadas diversas reorientações por parte do setor elétrico, particularmente no que se refere aos efeitos sociais e ambientais. Foram iniciados processos de privatização e a política de aproveitamento hidrelétrico passou a ser direcionada a construção de barragens de médio porte, em substituição aos projetos de grandes obras iniciados no governo militar (Santos 2001).

Em 1992 foi realizada no Rio de Janeiro a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento, que propôs uma série de medidas para a conservação da biodiversidade e desenvolvimento sustentável para os cerca de 150 países que ratificaram a Convenção sobre Diversidade Biológica (Decreto nº 2.519, de 16 de março de 1998). Nesta década também foram criadas uma série de legislações sobre meio ambiente, das quais as mais relevantes foram Decreto Federal nº750 (de 10 de fevereiro de 1993), que dispõe sobre o corte, a exploração e a supressão de vegetação primária ou nos estágios avançado e médio de regeneração da Mata Atlântica, e Lei nº 11.428 (de 22 de dezembro de 2006), que dispõe sobre a utilização e proteção da vegetação nativa do Bioma Mata Atlântica. Estas legislações possuem um caráter extremamente restritivo, entretanto, empreendimentos com o caráter “utilidade pública” ficam liberados das restrições previstas por estas leis.

Na situação atual, as políticas públicas têm favorecido a construção de Pequenas Centrais Hidrelétricas (PCH), que, por tratar-se de pequenos empreendimentos, estão liberadas de EIA-RIMA, e resultam em menores áreas alagadas diminuindo as problemáticas com indenizações de propriedades.

De qualquer modo as concessões para construções de Usinas Hidrelétricas e Pequenas Centrais Hidrelétricas ainda levam pouco em conta as espécies ameaçadas, e os planejamentos à nível de bacia hidrográfica trazem poucas soluções em termos de conservação. Provavelmente muitas espécies estão sendo extintas sem sequer serem conhecidas, uma vez que as plantas reófitas normalmente não são consideradas nos levantamentos prévios, já que os órgãos ambientais em geral exigem apenas o levantamento de espécies arbóreas e não das demais formas de vida.

### 3. HISTÓRICO DE *DYCKIA DISTACHYA*: OS ATORES NO CONHECIMENTO E CONSERVAÇÃO DA ESPÉCIE

#### 3.1. DESCRIÇÕES BOTÂNICAS E ÁREA DE DISTRIBUIÇÃO DA ESPÉCIE

*Dyckia distachya* foi descrita por Hassler em 1919, como ocorrente na Bacia do Rio Paraná nas proximidades de onde hoje se encontra a Usina Hidrelétrica (UHE) de Itaipu (Reitz 1983). O registro do Tipo, coletado por Fiebrig, aparentemente foi perdido e não existem relatos de coletas posteriores nesta região.

Posteriormente, as descrições da Flora Neotropica (Smith & Downs 1974) incluíram como área de ocorrência da espécie a região do Estreito do Rio Uruguai, na fronteira entre Rio Grande do Sul e Santa Catarina, a partir da coleta e identificação de indivíduos por Raulino Reitz em 1951. Para esta região também foi registrada a presença de *D. brevifolia*, a partir da coleta de Smith e Klein em 1964.

Na Flora Neotropica (Smith & Downs 1974), a chave dicotômica para o gênero *Dyckia* identifica a espécie *D. distachya* tanto na sub-chave de inflorescências compostas, como na sub-chave de inflorescências simples ou pouco ramificadas, enquanto classificou a *D. brevifolia* apenas como inflorescências simples.

Em 1982 foi publicado por Winkler, um documento com chaves de identificação para os principais gêneros de bromeliáceas do Rio Grande do Sul. Para o gênero *Dyckia* foram descritas 15 espécies. Nesta publicação o principal caráter utilizado para separar *D. distachya* de *D. brevifolia* foi o tipo de inflorescência, se simples ou composta, sendo a primeira de inflorescências ramificadas e a segunda simples. Estas publicações podem ter gerado algumas confusões, pois na realidade as duas espécies podem apresentar ambas as formas de inflorescências, sendo que a *D. distachya* chega a apresentar tal variação em um mesmo indivíduo (A. Reis observações pessoais).

A área de ocorrência de *D. distachya* definida por Winkler (1982) foi desde o Leste do Paraguai até Santa Catarina, Brasil, assim como a descrição da Flora (Smith & Downs 1974). Os registros de ocorrência das exsicatas analisadas foram: Marcelino Ramos (Rambo 4643, 1941), Fazenda Redonda, Vacaria (Rambo 34626, 1946), Passo da Guarda, Bom Jesus (Rambo 51867, 1952) e em viveiro em Nonoai (Winkler 85); enquanto *D. brevifolia* foi registrada pelo próprio Winkler (205) como ocorrente no Salto Yucumã, no Alto Uruguai.

Na publicação de Reitz (1983), na Flora Catarinense de Bromeliáceas, o autor cita sua coleta de *D. distachya* no Estreito do Rio Uruguai como primeira indicação para o Brasil, e assume como área de ocorrência para o Brasil sendo no Rio Uruguai, além do registro do Tipo no Paraguai. O autor cita para *D. brevifolia* em Santa Catarina apenas os municípios correspondentes a Bacia Hidrográfica do Itajaí-Açu.

Em 1992, *D. distachya* foi incluída na lista de espécies ameaçadas de extinção do IBAMA (Portaria n° 37 de 3 de abril de 1992) na categoria “Em Perigo”, que correspondem às espécies com risco muito elevado de extinção na natureza. Na lista a espécie consta como ocorrente no Paraná, e os registros para o Rio Uruguai não foram levados em conta na descrição da região de ocorrência.

Com a construção da Usina Hidrelétrica de Itá, que alagaria o Estreito do Rio Uruguai, houve a preocupação de salvar a *D. distachya*, que supostamente seria endêmica deste local. Na ocasião, não foram encontrados indivíduos de *D. brevifolia* na região.

Os próximos achados da espécie no Rio Uruguai estiveram vinculados a construção das Usinas Hidrelétricas de Machadinho e Barra Grande, onde foram encontradas respectivamente três e quatro populações na área de influência das barragens.

Anteriormente a liberação da Licença de Operação da Usina Hidrelétrica de Barra Grande, a pesquisadora Rafaela Forza, buscando esclarecer a região de ocorrência de *D. distachya*, realizou uma revisão dos acervos de herbários (Forza 2005). Foram avaliados todos

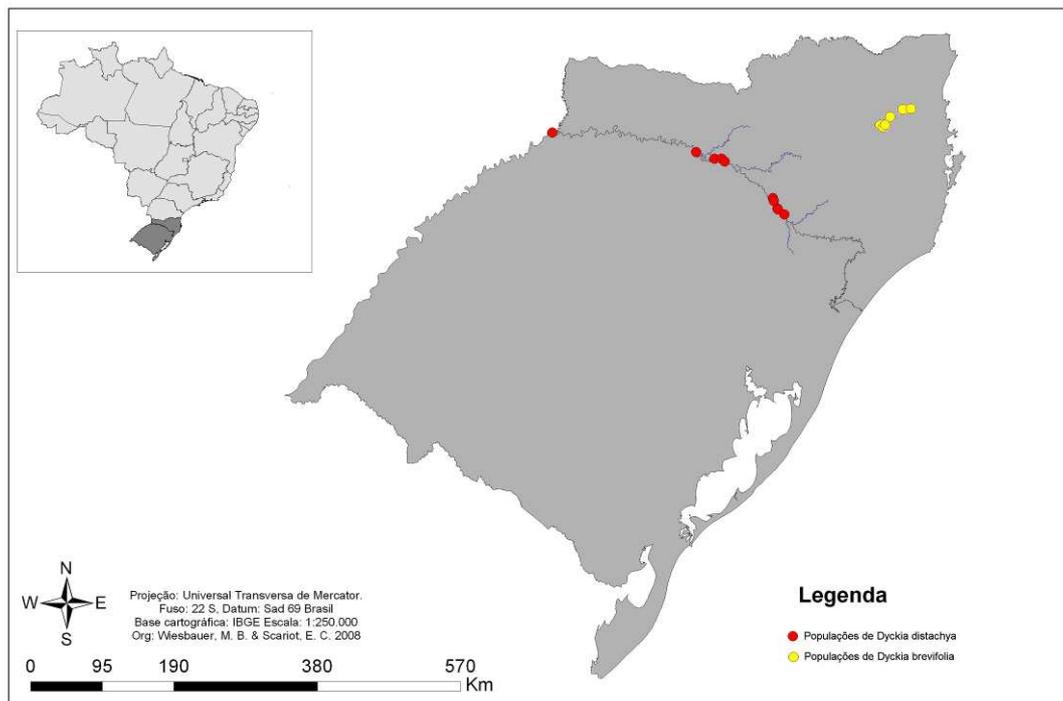
os registros de *D. distachya*, *D. brevifolia* e *D. microcalyx*, visto que estas três espécies são muito semelhantes e que ocupam o mesmo tipo de habitat no sul do Brasil. Todas as exsicatas que correspondiam a *D. distachya* eram provenientes do Estreito do Rio Uruguai e da região de Machadinho. O material coletado por Smith e Klein no Estreito do Rio Uruguai (Smith & Downs 1974) identificado como *D. brevifolia* correspondia a *D. distachya*. As exsicatas no Rio Iguaçu correspondiam a *D. microcalyx*, e uma exsicata proveniente do Turvo, ficou com possibilidades de ser *D. brevifolia*. Considerando que as populações localizadas em Itá e Machadinho já haviam sido extintas, a pesquisadora recomendou a visitação de alguns afluentes do Rio Uruguai e da Bacia do Rio das Antas, para a procura da espécie.

Em decorrência disto, as equipes da Usina Hidrelétrica de Barra Grande e do Laboratório de Ecologia Florestal da UFSC realizaram uma busca pela espécie ao longo de todo o Rio Uruguai. Fora a região de abrangência da barragem, foram encontrados agrupamentos apenas na região do Parque Estadual do Turvo, na fronteira entre Santa Catarina e Argentina, em território brasileiro. Além disto, existem relatos de populações da espécie nos afluentes do Rio Uruguai em território argentino (Reis *et al.* 2005).

As áreas de ocorrência de *D. brevifolia*, definidas na Flora Neotropica (Smith & Downs 1974), foram Minas Gerais, São Paulo e Santa Catarina, nos Rios Itajaí-Açu e no Rio Uruguai. Entretanto, os registros de Minas Gerais e São Paulo, não possuíam identificação de localidade e não foram registradas coletas posteriores para a região. Em 2007, a pesquisadora Juliana Rogalski e colaboradores (2007), definiram a área de ocorrência da espécie como restrita ao Rio Itajaí-Açu, na Bacia do Itajaí, em SC.

A questão da ocorrência de *D. brevifolia*, ou *D. distachya*, na região do Turvo ainda é contraditória considerando os dados de Herbário e dos levantamentos. O mais provável é que *D. distachya* e *D. brevifolia* originalmente ocorressem em Bacias Hidrográficas distintas, sendo *D. distachya* endêmica do Rio Uruguai e *D. brevifolia* endêmica da Bacia do Rio Itajaí (Figura

2). Estudos detalhados da biologia reprodutiva destas espécies 2007, também esclareceram que *D. distachya* é auto-incompatível (Capítulo 2), enquanto *D. brevifolia* é auto-compatível e produz sementes apomíticas (Rogalski 2007).



**Figura 2.** Mapa com as regiões de ocorrência de *Dyckia distachya* Hassler, na Bacia do Rio Uruguai e *Dyckia brevifolia* Baker, no Rio Itajaí-Açu.

A ocorrência de *D. distachya* no rio Paraná, onde hoje existe a Hidrelétrica de Itaipu, de onde provém o tipo, também é uma incógnita, visto que não foram encontrados outros exemplares no local e as coletas desta região avaliadas por Forza (2005) correspondem a *D. microcalyx*. Conforme as próprias afirmativas da pesquisadora, o gênero *Dyckia* precisa de uma ampla revisão taxonômica buscando esclarecer estas incógnitas.

## 3.2. PROCESSO DE EXTINÇÃO E RESGATE DAS POPULAÇÕES NATURAIS

### 3.2.1. Usina Hidrelétrica de Itá

Durante a construção da Usina Hidrelétrica de Itá, foi levantada a necessidade de conservação de *D. distachya*, que estava na lista de espécies ameaçadas de extinção (Portaria do IBAMA nº37 de 3 de Abril de 1992), e, em junho de 1993, foi realizada uma audiência pública que salientou a necessidade de resgate da espécie (Francisco Miranda, funcionário do Horto Florestal de Itá, com.pess.). A bromélia ocorria em touceiras, em um contínuo ao longo do cânion do *Estreito Augusto César*, com 8.900 m de extensão no rio Uruguai. Na época esta era a única população conhecida e identificada como *D. distachya* no Brasil.

Em 1993, a equipe da GERASUL retirou do rio 16 exemplares, e replantou o material em um canteiro de pedras no Horto Florestal da Usina Hidrelétrica de Itá. A partir destas matrizes foram geradas muitas sementes e produzidas mudas para a ampliação da coleção do Horto (F. Miranda, com.pess.).

Em 1994, foi realizada uma busca por locais para relocação nos afluentes do rio Uruguai em locais próximos a área de ocorrência original da espécie. Foram selecionados três locais com características semelhantes as do Estreito do rio Uruguai: Passo Uvá, no Rio Engano, onde foram introduzidas cerca de 30 rosetas formando cinco touceiras nas frestas das rochas; Saltão, nas margens de corredeira do Rio Fragosos, próximo a escola Agrotécnica; e em um salto de 30 m no Rio Jucão (F. Miranda, com.pess.). As mudas transplantadas foram às produzidas no Horto Florestal de Itá (Jusselei Perim, funcionário da Tractebel, com.pess.).

Por compensação ambiental, foi exigido pelo IBAMA o estabelecimento de duas unidades de conservação, o Parque Fritz Plaumann, em Concórdia/SC; e o Parque Municipal

Teixeira Soares, em Marcelino Ramos/RS. No Parque Fritz Plaumann foi plantado um extenso canteiro com mudas produzidas no Horto, mas fora das condições reofíticas típicas da espécie (F. Miranda, com.pess.). No Parque Teixeira Soares, foram plantadas em dois locais nas margens do lago, mudas produzidas a partir de sementes coletadas diretamente do estreito (J. Perim com. pess.).

Um evento interessante que ocorreu na época foi à divulgação da extinção da espécie na região, e a população local passou cultivar as mudas distribuídas pelo Horto em seus jardins na nova cidade de Itá. Um caso mais raro foi de moradores que coletaram a bromélia diretamente do rio.

Destaca-se neste contexto a ação do Sr. Venâncio Lazzarini, proprietário de um quiosque nas margens da BR 153, no município de Marcelino Ramos – RS, que informou ser procurado por um fotógrafo que gostaria de registrar a ocorrência desta bromélia no Estreito. Seus conhecimentos foram utilizados para guiar este fotógrafo, pois era um grande conhecedor da área como pescador. Incentivado pela raridade da espécie, coletou um conjunto de indivíduos da mesma e as cultivou em frente ao seu estabelecimento comercial. Atualmente, este conjunto representa a maior variabilidade genética da população do Estreito Augusto Cesar (ver Capítulo 3).

A partir de 2000, a equipe do Laboratório de Fisiologia e Desenvolvimento Genético Vegetal da UFSC, iniciou uma série de pesquisas buscando desenvolver tecnologias para a conservação *ex situ* da espécie. Em janeiro de 2000, foram coletadas cerca de cinco plantas a cada 30 metros, ao longo de 500 m de extensão nas ilhas e margens rochosas do Rio Uruguai, que passaram a integrar uma coleção no Centro de Ciências Agrárias da UFSC. Na mesma ocasião foram coletadas sementes que passaram a integrar um banco de germoplasma *in vitro* com mais de 250 genótipos (Pompelli & Guerra, 2004). Atualmente o Centro de Ciências Agrárias conta com 101 indivíduos provenientes do rio plantados em vasos. Da coleção *in vitro*

foram mantidos cinco explantes, e o restante do material a foi repicado para vasos que atualmente se encontram no Horto Florestal.

### **3.2.2. Usina Hidrelétrica de Machadinho**

Na construção da Hidrelétrica de Machadinho, a equipe da Bourscheid Engenharia e Meio Ambiente, contratada para o salvamento de flora, localizou no Rio Uruguai três novas populações de *D. distachya*: na foz do Rio Tigre com o Rio Uruguai e no Rio Canudos, ocorriam uma pequena população em uma ilha rochosa; e na Linha Pólo, ocorria uma grande população nas margens do lado catarinense do Rio Uruguai. (Claudir Lutkemeier, funcionário da Bourscheid, com.pess.).

Para Machadinho não houve nenhuma condicionante exigindo o salvamento das populações de *D. distachya*, mas houve coleta de material pela equipe de salvamento de flora. Não houve critério de coleta e, em 2002, foram retiradas do rio cerca de 1400 rosetas provenientes das quatro populações. As mudas foram coletadas dos locais mais acessíveis e de fácil retirada e misturadas sem identificação por origem das suas populações. As rosetas foram relocadas para um canteiro no Viveiro da Bourscheid em Machadinho e para quatro pontos de relocação. Os pontos na Linha Santa Catarina, Linha Pólo e Indaial correspondem a margens rochosas no lago e o ponto no rio Tigre corresponde às margens com solo em um afluente (C. Lutkemeier, com.pess.).

As mudas do Viveiro de Machadinho se reproduziram vegetativamente e produziram sementes que foram plantadas em um novo canteiro no próprio viveiro. Em 2007, 100 rosetas foram doadas para o Centro de Ciências Biológicas da UFSC e passaram a integrar a coleção *ex situ* de *D. distachya*.

### 3.2.3. Usina Hidrelétrica Barra Grande

Com a descoberta de quatro novas populações de *D. distachya* na área de influência da Usina Hidrelétrica de Barra Grande, veio à tona novamente a preocupação com a conservação da espécie. Foram realizadas reuniões no Ministério Público e definida a necessidade de uma revisão sobre a área de ocorrência da espécie e do estabelecimento de uma estratégia de resgate das populações afetadas.

Foi estabelecido um grupo de trabalho com especialistas, integrantes da BAESA e equipe da Bourscheid Engenharia e Meio Ambiente, que foi novamente responsável pelo salvamento da flora no empreendimento, para discutir estas questões. A pesquisadora Rafaela Forza fez uma revisão nos herbários para esclarecer a região de ocorrência da espécie (Forza 2005) e a equipe do Laboratório de Ecologia Florestal da UFSC fez uma extensa busca por populações ao longo do Rio Uruguai (Reis *et al.* 2005).

Como não foram encontradas novas populações fora da área de influência da barragem foi recomendada a coleta da maior parte dos indivíduos na área de influência do empreendimento, mantendo as populações separadas e com identificação de origem, com o intuito de resgatar a maior variabilidade possível das populações a serem extintas (Reis *et al.* 2005).

Em 2005, a equipe da Bourscheid coletou cerca de 4000 rosetas, provenientes das populações de Pedras Brancas, Encanados, Encanadinhos. As rosetas foram inicialmente mantidas no Viveiro de Campo Belo do Sul com identificação por família (que corresponde a uma touceira original do rio) e por população de origem.

Em 2005, a equipe do Laboratório de Ecologia Vegetal também coletou 130 indivíduos, 75 provenientes da população de Encanados e 55 de Encanadinhos, coletando-se um indivíduo

por touceira (Reis *et al.* 2005). O material coletado foi cultivado em vasos identificados, no Centro de Ciências Biológicas da UFSC.

Após o enchimento da barragem, foi estabelecida uma área piloto com experimentos de relocação e selecionados locais com potencial para relocação, no lago da Usina Hidrelétrica e nos afluentes da região. Destes locais, foram selecionados três pontos no lago, nas áreas de depleção que poderiam sofrer diferentes graus de alagamento de acordo com a variação da cota de enchimento do lago, e quatro locais nos afluentes que possuíam margens rochosas e, em alguns, influência de corredeiras (Tabela 1). Os locais acima da cota de 750 m de altitude foram descartados por estarem fora da cota original da espécie. Em 2006 iniciaram as relocações, sendo que cerca de 20% dos indivíduos permaneceu no Viveiro de Campo Belo do Sul, como população referência para a conservação *ex situ* e para a reposição nas relocações (Bourscheid, 2006).

**Tabela 1.** Locais de relocação de *Dyckia distachya* (Bourscheid-BAESA, 2006).

Área de relocação	Localização	Rosetas relocadas	Procedência
AR 01	Rio Pelotas (lago da UHE)	1230	Pedras Brancas
AR 02	Rio Pelotas (lago da UHE)	4.448	Encanados
AR 05	Rio Pelotas (lago da UHE)	257	Encanadinhos
AR 15	Lajeado dos Tijolos	2.010	Pedras Brancas
AR16	Rio Vacas Gordas	4.316	Encanados
AR17	Lajeado Limitão	315	Encanadinhos
AR 23	Rio Pelotas (lago da UHE)	2.162	Encanados

Em 2007, a coleção referência do Viveiro de Campo Belo do Sul foi relocada para o Viveiro da Bourscheid em Machadinho, para canteiros na Usina Hidrelétrica de Barra Grande, e para o Centro de Ciências Biológicas da UFSC. Além disso, foi criada uma coleção *ex situ* com 50 exemplares de cada população na Usina Hidrelétrica de Barra Grande.

## 4. SITUAÇÃO ATUAL

Atualmente tem-se conhecimento da existência de nove coleções e 12 relocações (Tabela 2).

**Tabela 2.** Locais *ex situ* de *Dyckia distachya* Hassler, com material proveniente das regiões de Itá, Machadinho e Barra Grande.

<b>Região de Origem/ Local <i>ex situ</i></b>	<b>Município</b>
<b>Itá</b>	
Horto Florestal	Itá/ SC
Parque Fritz Plaumann	Concórdia/ SC
Relocação Parque Teixeira Soares	Marcelino Ramos/ RS
Centro de Ciências Agrárias UFSC	Florianópolis/ SC
Quiosque BR-153	Marcelino Ramos/ RS
Relocação Passo Uvá	Itá/ SC
<b>Machadinho</b>	
Viveiro da Boursheid	Machadinho/ SC
Centro de Ciências Biológicas/ UFSC	Florianópolis/ SC
Relocação Linha Santa Catarina	Machadinho/ SC
Relocação Linha Pólo	Machadinho/ SC
<b>Barra Grande</b>	
Viveiro da Bourscheid	Machadinho/ SC
Centro de Ciências Biológicas/ UFSC	Florianópolis/ SC
Usina Hidrelétrica Barra Grande	Anita Garibaldi/ SC
Sete Áreas de Relocação –Tabela 1	

De Itá permaneceram cinco coleções e uma relocação (Tabela 2). No Passo Uvá, as rosetas se mantiveram até hoje, porém, após mais de dez anos da relocação, não foi verificado o recrutamento em novos indivíduos, provavelmente por o local não apresentar a condição reofítica (Reis *et al.* 2005 e observações pessoais). A relocação no Saltão, embora fosse em uma corredeira e aparentemente apresentasse as condições mais propícias para a ocorrência da espécie, não teve sucesso por se tratar de um local muito exposto a visitação e, as rosetas foram arrancadas pelos visitantes. A relocação do Salto Borboleta Alta, nas margens de uma queda d'água, não teve sucesso por se tratar de um local muito sombreado (F. Miranda, com.pes.).

De Machadinho, permaneceram os viveiros de Machadinho, a coleção do CCB, com material proveniente deste viveiro e as relocações na Linha Santa Catarina e Linha Pólo (Tabela 2). A relocação no Tigre estava em um local de margens sombreadas e as rosetas não sobreviveram. A relocação do Indaiau, nas margens do lago, foi carregada após um enchimento do lago e não restou nenhuma roseta. Na relocação na linha Santa Catarina, com a correnteza a maior parte das mudas foi carregada, mas restaram cerca de 50-80 rosetas (C. Lutkemeier, com.pes.). A relocação na linha Pólo, realizada em um paredão rochoso na encosta do lago, as rosetas permaneceram, embora não tenha havido recrutamento de novos indivíduos por sementes (observações pessoais).

De Barra Grande, existe a coleção no Viveiro de Machadinho, os canteiros da Usina Hidrelétrica de Barra Grande, a coleção *ex situ* do CCB e a coleção *ex situ* da Usina Hidrelétrica de Barra Grande. Na relocação do Tijolos, foi observada uma intensa predação pela lagarta da borboleta *Strymon rufofusca*, que se alimenta da mesoderme das folhas e acabou por matar uma boa parte das rosetas, e em algumas outras relocações houve o carreamento de mudas com a correnteza, mas as rosetas que permaneceram continuaram vigorosas. As áreas de relocação estão sendo reavaliadas para a definição dos locais mais propícios para a permanência da espécie, e haverá a manutenção e avaliação das relocações por ao menos mais dois anos, de acordo com a condicionante para a renovação da Licença de Operação da barragem.

Atualmente o Laboratório de Ecologia Florestal da UFSC, em parceria com a Tractebel (privatização da Gerasul) em um projeto de Pesquisa e Desenvolvimento aprovado pela ANEEL (Agência Nacional de Energia Elétrica), está estabelecendo novas áreas para relocação do material proveniente de Itá e Machadinho, e a Bourscheid Engenharia e Meio Ambiente, contratada pelo consórcio BAESA como uma condicionante para a Licença de Operação pelo

IBAMA, está monitorando e estabelecendo novas áreas para a relocação do material proveniente das populações de Barra Grande.

## 5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A *D. distachya* corresponde a uma espécie endêmica, cuja raridade foi determinada por sua especificidade como planta reofítica. Este tipo de adaptação torna as chances de sucesso de reintroduções muito remotas, pois os locais de ocorrência originais deixam de existir.

As verdadeiras exigências para que uma espécie reofita como esta possa ser reintroduzida e realmente possa formar novas populações através de recrutamentos de indivíduos via sementes, ainda são desconhecidas, mas já se evidenciam algumas questões básicas sobre esta espécie. Os principais aprendizados obtidos nos processos de relocação desta espécie foram: (1) a necessidade de incidência de luz solar direta, (2) necessidade de inundação e (3) necessidade de substrato rochoso.

A *incidência de luz solar* é determinante para o crescimento da espécie e principalmente para a formação de touceiras como eram encontradas nas populações originais. As rosetas em local sombreado estiolam e, à longo prazo, acabam morrendo.

A *inundação periódica* parece ser determinante para a dispersão e recrutamento de sementes. Este fator não é determinante para a sobrevivência de indivíduos adultos, mas contribui para a diminuição da competição com outras espécies de plantas, para a alocação de matéria orgânica carregada pelo rio e possivelmente pode contribuir como escape a predação. O ataque intensivo da borboleta *Strimon rufofusca* provavelmente é favorecido pela grande densidade de indivíduos característica da espécie, mas uma hipótese formulada é de que, na natureza, os alagamentos periódicos poderiam impedir a infestação, ou matar a lagarta quando os indivíduos estão submersos.

O *substrato rochoso*, juntamente com a inundação, é fundamental para evitar a competição com outras espécies, que possuem crescimento mais rápido e sombreiam a *D. distachya*.

A *correnteza* pode carrear as rosetas, se estas não tiverem tido tempo suficiente para enraizar. Na natureza as rosetas formavam grandes colônias arredondadas que eram hidrodinâmicas e dificultavam o carreamento. Neste caso o estabelecimento de rosetas adultas em relocações pode estar mais vulnerável até que ocorra a formação destas colônias. Deste modo podem ser buscadas estratégias alternativas como o *estabelecimento de indivíduos jovens ou via sementes* que terão mais tempo para se fixar antes de assumirem um tamanho que sofra grande atrito das águas.

Esta experiência também deixou clara a *importância do envolvimento do Estado, pesquisadores e empreendedoras no estabelecimento de estratégias de resgate e reintrodução de espécies, unindo exigências legais, conhecimento científico e engajamento das equipes selecionadas para a execução do trabalho*. Com esta retrospectiva histórica, ficou claro como o grau de exigência dos órgãos licenciadores e o engajamento de pesquisadores teve influência na quantidade e qualidade do material resgatado, especialmente se considerada a sua diversidade genética (ver Capítulo 3).

Outra evidencia que este estudo gerou foi a *importância do envolvimento da população local nos processos de conservação de espécies ameaçadas*. Se não houvesse a notícia da extinção da espécie em Itá, uma das coleções mais ricas geneticamente e de fundamental importância para a conservação no Quiosque em Marcelino Ramos, não teria sido formada. Do mesmo modo, a falta de um *projeto de educação ambiental* na reintrodução na Escola Agrotécnica em Itá foi determinante para o seu insucesso.

A conservação de espécies extintas na natureza deve necessariamente envolver a conservação *ex situ* e reintroduções. A conservação *ex situ* serve de fonte para novas

reintroduções, no caso de reintroduções infrutíferas, e para incremento da diversidade genética das reintroduções já estabelecidas. Porém, sem outras estratégias a conservação *ex situ* é vulnerável, pois depende das políticas dos órgãos envolvidos. Como exemplo existe a coleção *in vitro* da população de Itá, da qual restaram apenas cinco dos 250 genótipos inicialmente conservados.

As reintroduções possibilitam a constante interação com fatores bióticos e abióticos permitindo a contínua evolução da espécie reintroduzida. *O sucesso das reintroduções pode ser medido pelo restabelecimento das interações com a fauna e flora local – como ocorrência de polinização, herbivoria, espécies associadas etc. – e pela autonomia reprodutiva – capacidade de produzir sementes viáveis, dispersão de sementes e estabelecimento de novos indivíduos via sementes.*

Por fim, para conservação de espécies ameaçadas é necessário o conhecimento de sua área de ocorrência, aspectos de sua auto-ecologia e distribuição de sua diversidade genética. Estudos prévios destes fatores são determinantes para o sucesso das coletas, especialmente no sentido de resgatar a maior diversidade genética possível das populações a serem extintas.

Os *estudos genéticos* também deixaram claro que o processo de resgate é fundamental para a manutenção da diversidade genética, necessária para a continuidade de uma espécie. A coleta de um maior número de indivíduos, tendo o cuidado de coletar em diferentes populações também se mostrou relevante para evitar a deriva genética por efeito de coleta (ver Capítulo 3).

## **6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

ANEEL – Agência Nacional de Energia Elétrica. 2008. Relatório ANEEL 2007. 103p.

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

BOURSCHEID. 2006. Projeto de resgate e relocação de reófitas: Manutenção e monitoramento de reófitas relocadas. Relatório Anual I para BAESA (Usina Hidrelétrica Barra Grande). 142 p.

FORZA, R.C. 2005. Relatório *Dyckia distachya*. Relatório do Jardim Botânico do Rio de Janeiro para o Ministério do Meio Ambiente. 3pp.

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

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

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

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

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

ROGASKI, J. M.; REIS, A.; DOS REIS, M. S. e HMELJEVSKI, K. V. Biologia reprodutiva da reófito *Dyckia brevifolia* Baker (Bromeliaceae), Rio Itajaí-Açu, Santa Catarina. (em preparação).

SANTOS, S. C. 2001. As hidrelétricas, os índios e o Direito. In: REIS, M. J. & BLOEMER, N. M. S. (Organizadoras). *Hidrelétricas e populações locais*. Florianópolis: Editora da UFSC. P 19-37.

SANTOS, S. C. 2003. A geração hídrica de eletricidade no sul do Brasil e seus impactos sociais. *Etnográfica*, Vol. VII (1), 2003, pp. 87-103.

SMITH, L. B. e DOWNS, R. J. 1974. Pitcairnioideae (Bromeliaceae). Flora Neotropica Monograph 14(1): 1-662. Hafner Press, New York.

VAN STEENIS, C.G.C.J. 1932. Report of a botanical trip to the Anambas and Natoena Islands. Bull. Jard. Bot. 12: 151-211.

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

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

WINKLER, S. 1982. Die Bromeliacea. Rio Grande do Sul (S-Brasilien). *Documenta Naturae* 3: 1-81.

## 7. ANEXO FOTOGRÁFICO

### 7.1. COLEÇÕES *EX SITU* E RELOCAÇÕES COM MATERIAL DE ITÁ



Horto Florestal de Itá, em Itá-SC (com a implantação dos experimentos de Biologia Reprodutiva – Capítulo 2).



Parque Fritz Plaumann, em Concórdia SC.



Quiosque em frente a Br 153, em Marcelino Ramos, RS.



Usina Hidrelétrica de Itá, em Itá, SC.



Relocação no Passo Uva, Rio Engano, em Itá SC.



Coleção do Centro de Ciências Agrárias da UFSC, em Florianópolis, SC.

## 7.2. COLEÇÕES *EX SITU* E RELOCAÇÕES COM MATERIAL DE MACHADINHO

	<p>Viveiro de Machadinho, em Machadinho, RS.</p>
	<p>Relocação no Lago de Machadinho, em Machadinho, RS.</p>
	<p>Coleção do Centro de Ciências Biológicas da UFSC, em Florianópolis, SC.</p>

### 7.3. COLEÇÕES *EX SITU* E RELOCAÇÕES COM MATERIAL DE BARRA GRANDE



Canteiros da Usina Hidrelétrica de Barra Grande, Anita Garibaldi, SC.



Coleção *ex situ* da Usina Hidrelétrica de Barra Grande, Anita Garibaldi, SC.



Relocação a jusante do lago da Usina Hidrelétrica Barra Grande (AR23), Pinhal da Serra – RS.



Coleção do Centro de Ciências Biológicas da UFSC, em Florianópolis, SC



Relocação no Lajeado dos Portões (Área Piloto), em Campo Belo do Sul, SC.



Relocação no Rio Vacas Gordas (AR 16, em Campo Belo do Sul, SC.

## CAPÍTULO 2

### Guilda de polinizadores e efetividade de polinização em diferentes condições *ex situ* e morfologias florais de *Dyckia distachya* Hassler (Bromeliaceae)



## 1. INTRODUÇÃO

*Dyckia distachya* Hassler é uma espécie reofítica, que ocorre em margens e ilhas rochosas de corredeiras. A espécie tinha uma distribuição disjunta ao longo de 617 km do rio, na Bacia do Rio Uruguai. Em um período de cinco anos teve sete de suas oito populações extintas na natureza devido construção de três Usinas Hidrelétricas, na região de Itá, Machadinho e Barra Grande. Parte das populações foi resgatada e mantida em viveiros e reintroduções nas regiões próximas as suas áreas de ocorrência original e nas coleções da Universidade Federal de Santa Catarina, em Florianópolis.

A família Bromeliaceae possui uma grande riqueza de espécies, associadas a principalmente a polinização por beija-flores (Sazima *et al.* 1989), e em menor frequência abelhas, morcegos, borboleta etc. (Sazima *et al.* 1989, Sazima *et al.* 1999, Benzing 2000, Siqueira-Filho & Machado 2006). Para o gênero *Dyckia*, pertencente da família Ptcairnioidea, tem sido relatada a polinização principalmente por abelhas e beija-flores (Galetto & Bernardello 1992, Guerra & Orth 2003, Vosgueritchian & Buzato 2006, Rogalski 2007, Hmeljevski 2007), além de borboletas (Galetto & Bernardello 1992, Rogalski 2007).

As questões norteadoras deste estudo são: (1) as condições *ex situ* propiciam visitação por potenciais polinizadores; (2) os visitantes florais realizam polinização efetiva; (3) existe diferença na guilda e comportamento de polinizadores nas diferentes populações e locais de conservação. Para responder a estas questões foram realizados estudos de biologia reprodutiva, avaliações de visitantes florais e de produtividade de sementes nos diversos locais de conservação da espécie. Foram discutidas as possíveis conseqüências destes fatores sobre o sucesso reprodutivo da espécie a sobre a manutenção da diversidade genética para as coleções e futuras reintroduções.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. LOCAIS DE ESTUDO

Os estudos de biologia reprodutiva de *Dyckia distachya* foram realizados em 10 locais com condições *ex situ* da espécie, com indivíduos provenientes da região de Itá (quatro locais), Machadinho (três) e Barra Grande (três) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Locais de estudo com condições *ex situ* de *Dyckia distachya* Hassler.

Sigla	Região de origem / Local de conservação <i>ex situ</i>	Município
<b>Itá</b>		
HF	Horto Florestal	Itá / SC
PFP	Parque Fritz Plaumann	Concórdia / SC
RU	Relocação no Passo Uvá - Rio Engano	Itá / SC
CCA	Centro de Ciências Agrárias da UFSC	Florianópolis / SC
<b>Machadinho</b>		
VM	Viveiro da Bourscheid	Machadinho / RS
RM	Relocação no lago de Machadinho	Machadinho / RS
CCB-M	Centro de Ciências Biológicas da UFSC	Florianópolis / SC
<b>Barra Grande</b>		
VCBS	Viveiro da Bourscheid	Campo Belo do Sul / SC
UHEBG	Usina Hidrelétrica de Barra Grande	Campo Belo do Sul / SC
CCB-BG	Centro de Ciências Biológicas da UFSC	Florianópolis / SC

O HF, PFP, VM, VCBS e UHEBG são viveiros abertos com uma grande quantidade de rosetas (>1000 ramets) e CCB-BG com menor quantidade (150 ramets), plantados diretamente no solo e próximos a áreas de vegetação nativa. O RU e RM correspondem a plantios de respectivamente cinco e seis touceiras pequenas ( $\pm 30$  ramets) em frestas de rochas próximas ao rio, mas não submetidas à condição reofítica característica da espécie. Os viveiros CCB-M e CCA tratam-se de viveiros fechados, o primeiro sob telado e laterais

abertas e o segundo em casa de vegetação coberta de plástico e janelas abertas, ambos abrigando um pequeno volume de plantas em vasos (50 e 101 ramets respectivamente).

## 2.2. MORFOLOGIA FLORAL

A descrição da morfologia floral foi realizada com base em observações das plantas nos locais de estudo e em dados bibliográficos.

A caracterização morfométrica das inflorescências foi realizada para os dez locais de conservação, com número amostral variando de sete a 30 inflorescências por local, de acordo com a disponibilidade. Foram mensurados: comprimento da inflorescência desde a base, número e comprimento das ramificações e número total de flores. A morfologia floral foi avaliada em 20 flores de cada região de ocorrência (Barra Grande, Machadinho e Itá). As flores foram fixadas por 48h em solução de FAA 70% e posteriormente conservadas em álcool 70%. Em laboratório foram mensurados com paquímetro de precisão o comprimento e diâmetro do tubo, comprimento das pétalas, sépalas, gineceu e androceu e altura da ligação dos filetes. Os frutos foram caracterizados quanto ao número de total de sementes e número de sementes por loco, para cinco locais (UHEBG, VCBS, VM, HFI e RI).

Os dados de morfometria das três regiões foram comparados com Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste Tukey de separação de médias (Sokal e Rohlf 1979) no programa Prism3 (Dowsett *et al* 2006). Os padrões morfológicos das inflorescências e flores das três regiões foram avaliados através de análise multivariada (Análise de Componentes Principais – PCA), no programa Fitopac 1.6 (Shepherd 2006).

## 2.3. DISPONIBILIDADE DE RECURSOS FLORAIS

A fenologia da floração foi acompanhada mensalmente ao longo de todo o ano de 2007 até março de 2008 nos dez locais de conservação. Foram observadas as seguintes fenofases:

emissão de escapos florais, presença de botões florais, antese, frutos imaturos e maduros (deiscentes). A intensidade das diferentes fenofases foi classificada em notas de 0 a 4 de acordo com a classificação de Fournier (1975).

Para a estimativa do número de anteses por dia, o horário de abertura e o tempo de vida das flores, foram acompanhadas 20 inflorescências em indivíduos provenientes de Barra Grande, no CCB-BG. O tempo médio de floração por inflorescência foi estimado a partir da razão entre o número médio de flores por inflorescência e o número médio de novas anteses por dia por inflorescência.

A presença e disponibilidade de néctar foi avaliada ao longo de um dia em 18 flores, em quatro horários (9h, 12h, 15h e 18h), em indivíduos provenientes de Machadinho, no VM. O néctar foi coletado e medido com microcapilares Drumond de 1µl, e estimada a concentração de açúcares com refratômetro portátil Bellingham & Stanley com escala de 0 a 50 ° Brix. Anteriormente as medições, às 6h, as inflorescências foram ensacadas para evitar a visitação pela fauna.

## 2.4. SISTEMA REPRODUTIVO

Em 2006 foram realizados experimentos de cruzamentos controlados em indivíduos provenientes de Itá, no HFI. Foram realizados os tratamentos: *polinização livre* (controle) (n=42); *teste de autopolinização manual* – emasculação das flores, fertilização manual com o pólen das mesmas e ensacamento (n=30); *teste de apomixia* (agamospermia) – emasculação das flores e ensacamento (n=31); *teste de polinização cruzada* (xenogamia) – emasculação das flores, fertilização manual com pólen de indivíduos de outro gêneta e ensacamento (n=31).

Em 2007 foram realizados os tratamentos de *autopolinização manual*, com 9 e 8 flores em indivíduos provenientes de Machadinho e Barra grande do CCBM e CCB-BG, respectivamente. Foram realizados testes de *autopolinização espontânea* em 10

inflorescências (405 flores) em indivíduos provenientes de Itá, no HF, e em 4 inflorescências (111 flores) em indivíduos provenientes de Barra Grande, no CCB.

Para todos os testes foram medidas: (a) *formação de frutos* – percentagem de frutos formados em relação ao total de flores por inflorescência; e (b) *viabilidade das sementes* – as sementes de cada tratamento foram misturadas e retirados quatro lotes de 100 sementes. As sementes foram colocadas para germinar em caixas *gerbox* em estufa a 30°C, e a germinação verificada após 15 dias. Naqueles tratamentos em que a produção de sementes foi inferior a 400 sementes, foi testada a viabilidade de todas as sementes produzidas.

## 2.5. ECOLOGIA DA POLINIZAÇÃO

A avaliação de visitantes florais foi realizada através de observações naturalísticas durante os meses de novembro e dezembro de 2007. Foram realizadas 40 horas de observação: 5h no HFI, 2h no PFP, 1h na RE, 12h no VM, 13h na UHE-BG, e 7h no VCBS. No total foram realizadas 24h no período matutino e 16h no vespertino, identificando-se os visitantes florais e suas frequências de visitação nas flores. Além disto, foram realizadas observações eventuais no PFP, RU e CCB-BG, e consultados os funcionários dos viveiros. A identificação dos visitantes foi realizada por especialistas (ordem Hymenoptera - Rafael Kamke; ordem Lepidóptera - Marcelo Duarte e André Victor Lucci Freitas), através de registros fotográficos e eventualmente coleta.

## 2.6. EFETIVIDADE DA POLINIZAÇÃO EM CONDIÇÕES *EX SITU*

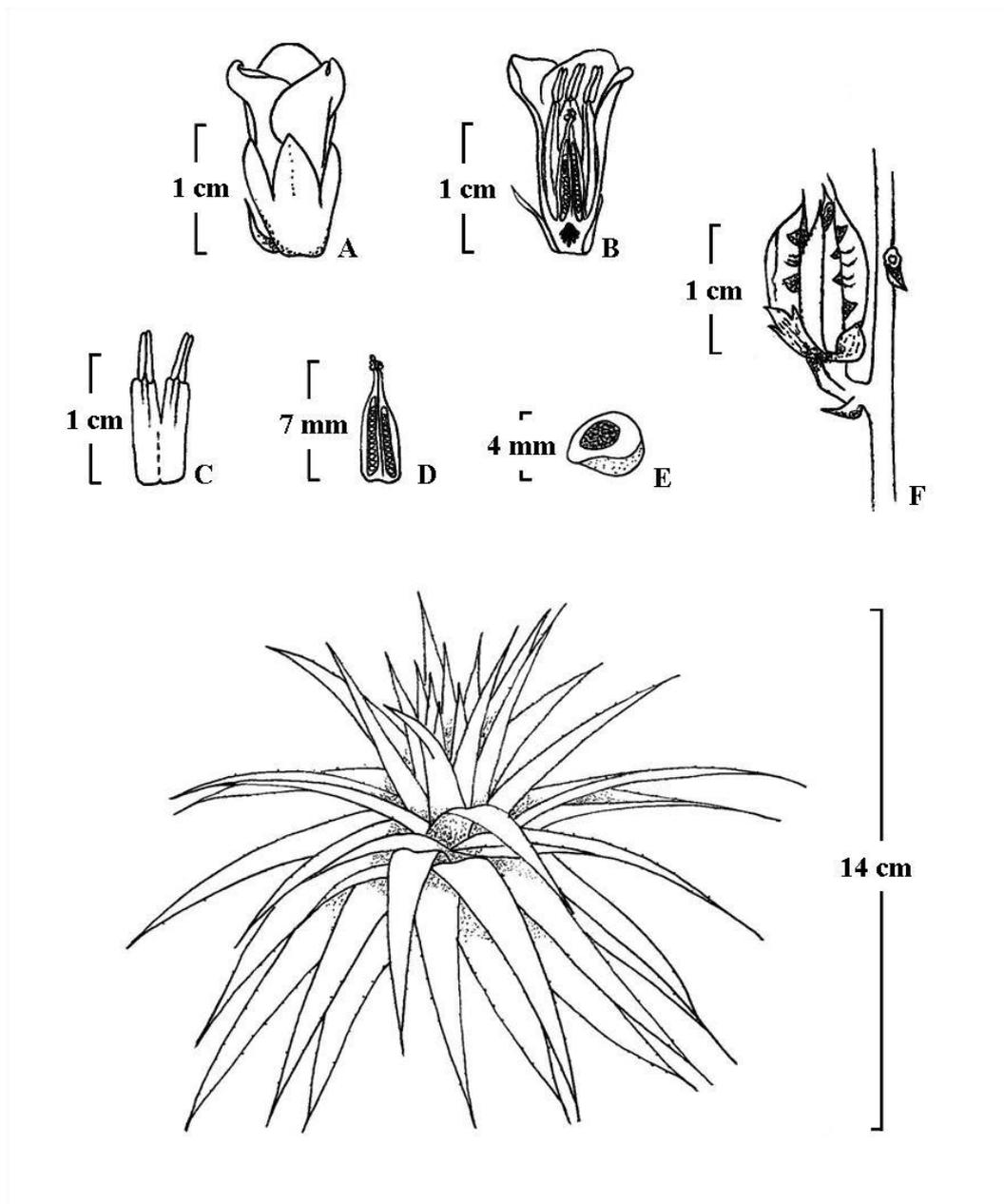
Para a comparação entre a efetividade da polinização nos 10 locais de estudo foram estimados: *percentual de formação de frutos* – percentagem de frutos formados em relação ao total de flores por inflorescência, com número amostral variando de sete a 30 inflorescências

por local, de acordo com a disponibilidade; e *percentual de germinação das sementes* – as sementes de cada local foram coletadas e misturadas e retirados quatro lotes de 100 sementes para a germinação em caixas *gerbox* em estufa a 30°C e luz natural, e a germinação verificada após 15 dias.

### **3. RESULTADOS**

#### **3.1. MORFOLOGIA FLORAL**

As inflorescências são eretas e axilares em forma de racemos ou panículas. As flores são completas e hermafroditas. As pétalas são imbricadas formando uma ante-câmara de forma tubular a campanulada e as sépalas são conadas na base (Figura 1 A e B). Os seis estames são fusionados entre si, formando uma segunda câmara de acumulação de néctar. As anteras são basifixas, introrsas e com deiscência longitudinal (Figura 1 B e C). O pistilo tem ovário súpero, tricarpelar e sincárpico, e com estigma do tipo conduplicado-espiral (Figura 1 D). Os frutos são do tipo cápsula, com três locos deiscentes (Figura 1 F) e as sementes são aladas (Figura 1 E). Os dados morfométricos das inflorescências, flores e sementes encontram-se nas Tabelas 2, 3 e 4, respectivamente.



**Figura 1.** Arquitetura vegetativa de *Dyckia distachya* Hassler e em detalhes as flores (A e B), estames (C), pistilo (D), semente (E) e fruto (F). Indivíduo proveniente da região de Barra Grande. Ilustração Karina Hmeljevski.

Os indivíduos de Itá apresentaram em média inflorescências maiores, com maior número e tamanho de ramificações e maior número de flores; e os indivíduos de Barra Grande apresentam um maior número de inflorescências por roseta (Tabela 2 e Figura 2). Os indivíduos de Itá apresentaram em média flores com maior abertura de tubo (0,63 cm), os de Barra Grande tubos mais longos (0,91 cm), e os de Machadinho um padrão intermediário (Tabela 3 e Figura 3).

Quanto ao padrão de coloração, os indivíduos de Itá apresentaram pouca variação, com escapo floral verde e flores amarelo intenso ou escapo e flores levemente alaranjados. Os indivíduos de Machadinho apresentaram escapo e cálice avermelhado e corola alaranjada. Os indivíduos de Barra Grande apresentaram uma maior variação, com escapo e flores laranjas, escapo e flores vermelhas e em menor frequência escapo e cálice vermelho e corola amarela (Figura 4).

**Tabela 2.** Aspectos morfológicos das inflorescências de *Dyckia distachya* Hassler em valores médios e amplitude. A identificação das siglas dos locais está descrita nos Locais de estudo. n= número de inflorescências amostradas por local

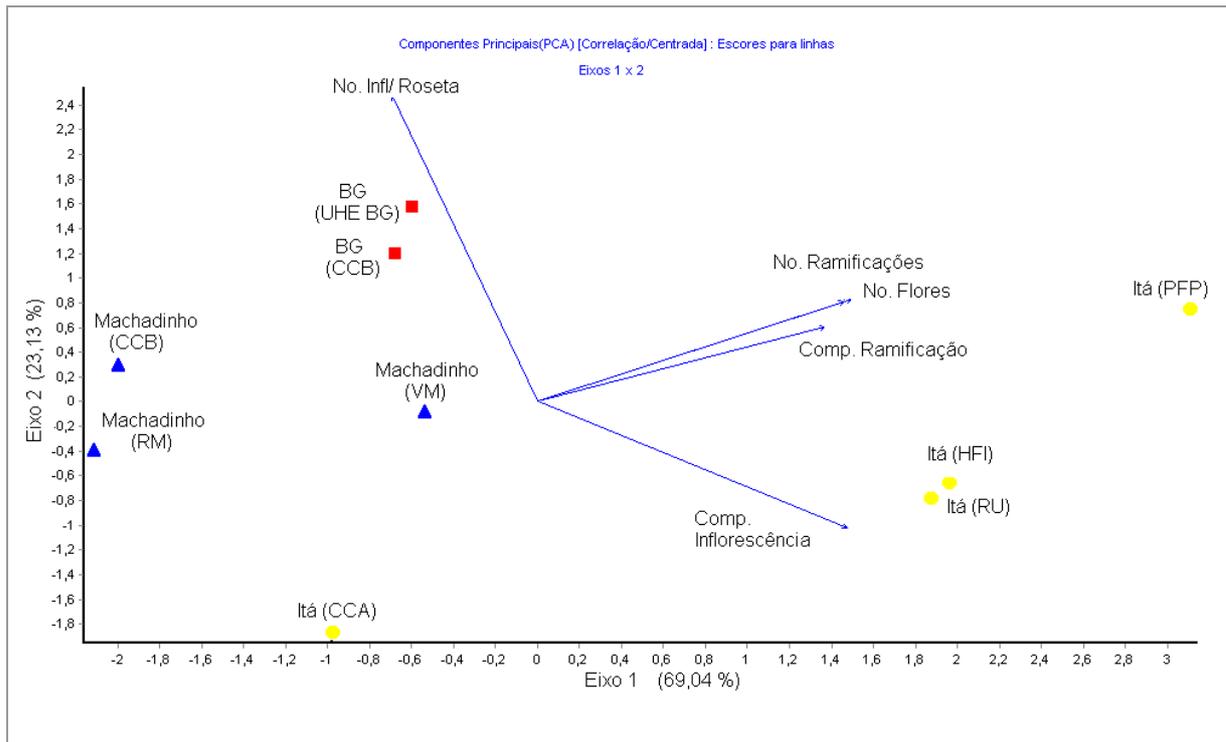
	Local	n	Comp. Inflorescência (cm)	Nº Ramificações	Comp. Ramificações (cm)	Total de Flores	Nº Escapos Florais
Itá	CCA	8	92,5 ± 27,6 (54-132)	0	----	21,5 ± 6,8 (9-30)	1,0 ± 0 (1)
	HF	30	121,1 ± 26,7 (52-163)	1,0 ± 1,7 (0-5)	24,1 ± 8,2 (3-40)	60,3 ± 30,3 (14-141)	1,1 ± 0,3 (1-2)
	RE	30	120,0 ± 32,2 (60-157)	1,2 ± 1,4 (0-4)	23,8 ± 14,0 (4-66)	50,8 ± 30,5 (8-134)	1,1 ± 0,3 (1-2)
	PFP	30	118,7 ± 29,4 (43-177)	2,5 ± 2,3 (0-7)	19,1 ± 5,7 (9-30)	90,6 ± 54,4 (22-244)	1,3 ± 0,5 (1-3)
Mach.	CCB	14	55,9 ± 10,7 (31-79)	0	----	24,1 ± 8,5 (7-45)	1,6 ± 0,6 (1-3)
	VM	20	73,9 ± 13,7 (48-94)	0,4 ± 1,3 (0-6)	11,7 ± 3,6 (6-16)	34,1 ± 12,8 (7-61)	----
	RM	7	48,7 ± 6,6 (41-60)	0	----	16,4 ± 3,7 (12-22)	----
BG	CCB	21	61,7 ± 15,7 (30-90)	0,8 ± 1,6 (0-7)	9,6 ± 3,9 (2-20)	42,7 ± 12,4 (24-69)	1,7 ± 0,6 (1-3)
	VCBS	30	64,4 ± 18,0 (35-109)	0,5 ± 1,1 (0-4)	18,1 ± 7,9 (7-31)	39,8 ± 16,3 (10-76)	1,8 ± 1,5 (1-8)
<b>Média</b>		<b>21</b>	<b>84,1 (30-177)</b>	<b>0,7 (0-7)</b>	<b>11,8 (2-66)</b>	<b>42,3 (7-244)</b>	<b>1,4 (1-8)</b>

\* Valores médios ± desvio padrão e amplitude

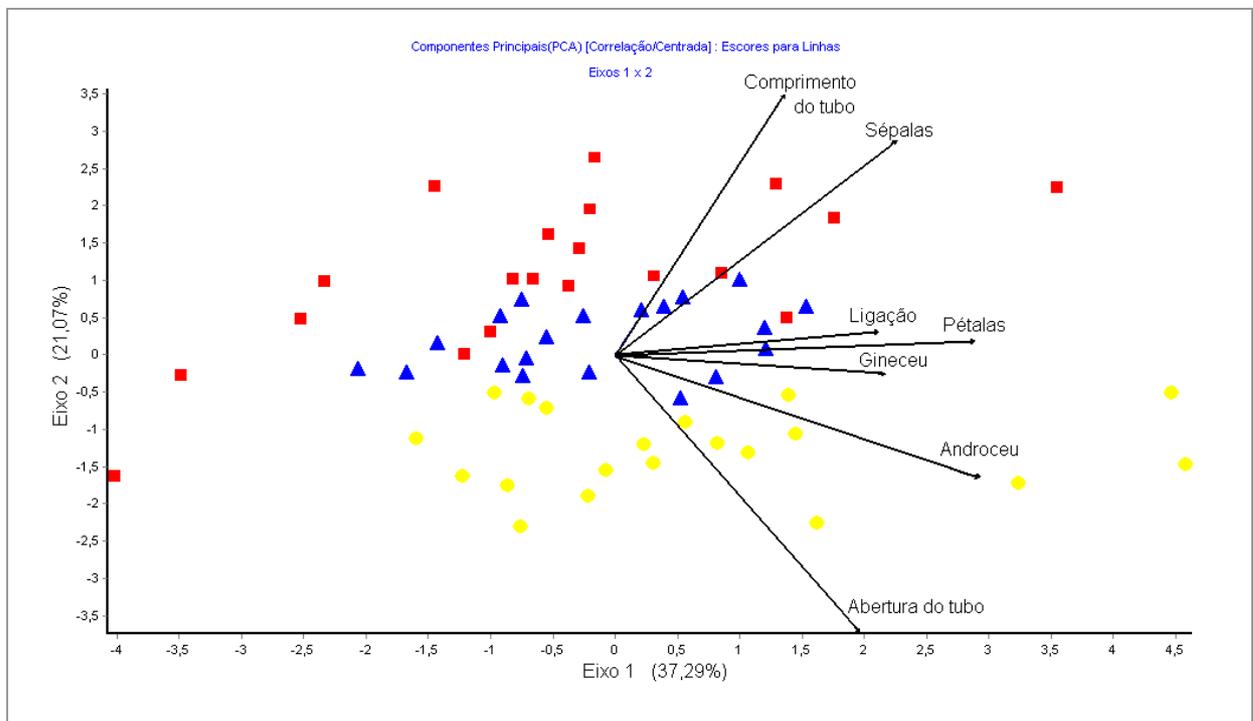
**Tabela 3.** Aspectos morfológicos das flores de *Dyckia distachya* Hassler de diferentes Regiões de origem.

Regiões de origem	n	Abertura do Tubo*	Comprimento do Tubo *	Pétala *	Sépala *	Gineceu *	Androceu *	Ligação dos Estames *
Itá	20	0,63 ± 0,05 (b)	0,74 ± 0,08 (a)	1,47 ± 0,14 (a)	0,98 ± 0,13 (a)	0,87 ± 0,3 (ab)	1,35 ± 0,17 (b)	0,42 ± 0,09 (a)
Machadinho	20	0,52 ± 0,03 (a)	0,76 ± 0,07 (a)	1,33 ± 0,15 (ab)	1,06 ± 0,08 (a)	0,92 ± 0,21 (b)	1,22 ± 0,07 (a)	0,45 ± 0,06 (a)
Barra Grande	20	0,50 ± 0,05 (a)	0,91 ± 0,14 (b)	1,30 ± 0,26 (b)	1,06 ± 0,19 (a)	0,80 ± 0,08 (a)	1,21 ± 0,11 (a)	0,41 ± 0,10 (a)
<b>Média</b>	<b>20</b>	<b>0,55</b>	<b>0,80</b>	<b>1,37</b>	<b>1,03</b>	<b>0,86</b>	<b>1,26</b>	<b>0,43</b>

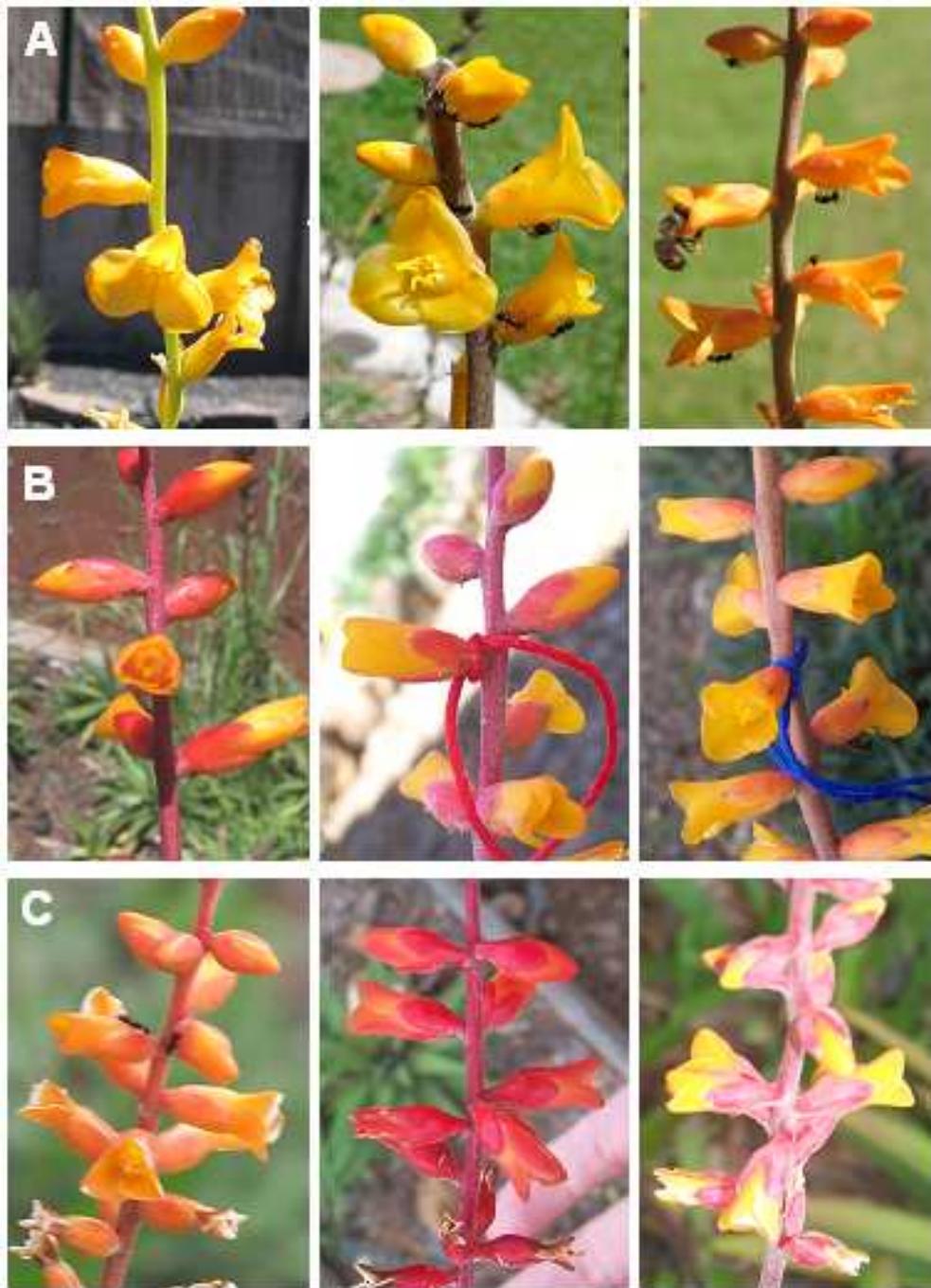
\* As letras correspondem aos resultados do Teste Tukey de separação de médias.



**Figura 2.** Análise dos Componentes Principais (PCA) com dados morfométricos das inflorescências de *Dyckia distachya* Hassler (Tabela 1). Indivíduos da região de Itá (círculos amarelos); Machadinho (triângulos azuis) e Barra Grande (quadrados vermelhos). Siglas dos locais *ex situ* de acordo com a Tabela 1.



**Figura 3.** Análise dos Componentes Principais (PCA) com dados morfométricos das flores de *Dyckia distachya* Hassler (Tabela 3). Indivíduos da região de Itá (círculos amarelos); Machadinho (triângulos azuis) e Barra Grande (quadrados vermelhos).



**Figura 4.** Coloração dos eixos das inflorescências e dos verticilos protetores em indivíduos de *Dyckia distachya* Hassler provenientes da região de Itá (linha A), Machadinho (linha B) e Barra Grande (linha C).

Os frutos apresentaram em média 98,6 sementes (Tabela 4).

**Tabela 4.** Número de sementes por fruto de *Dyckia distachya* Hassler. Siglas dos locais *ex situ* de acordo com a Tabela 1.

Região de origem	Local <i>ex situ</i>	Nº amostral	Número de sementes / fruto
Itá	HF	28	104,9 ± 20,5 (77-138)
	PFP	30	91,9 ± 18,1 (51-126)
Machadinho	VM	28	88,8 ± 17,3 (57-111)
Barra Grande	VCBS	31	94,5 ± 14,9 (69-120)
	UHEBG	30	112,8 ± 17,7 (91-150)
<b>Média</b>			<b>98,6</b>

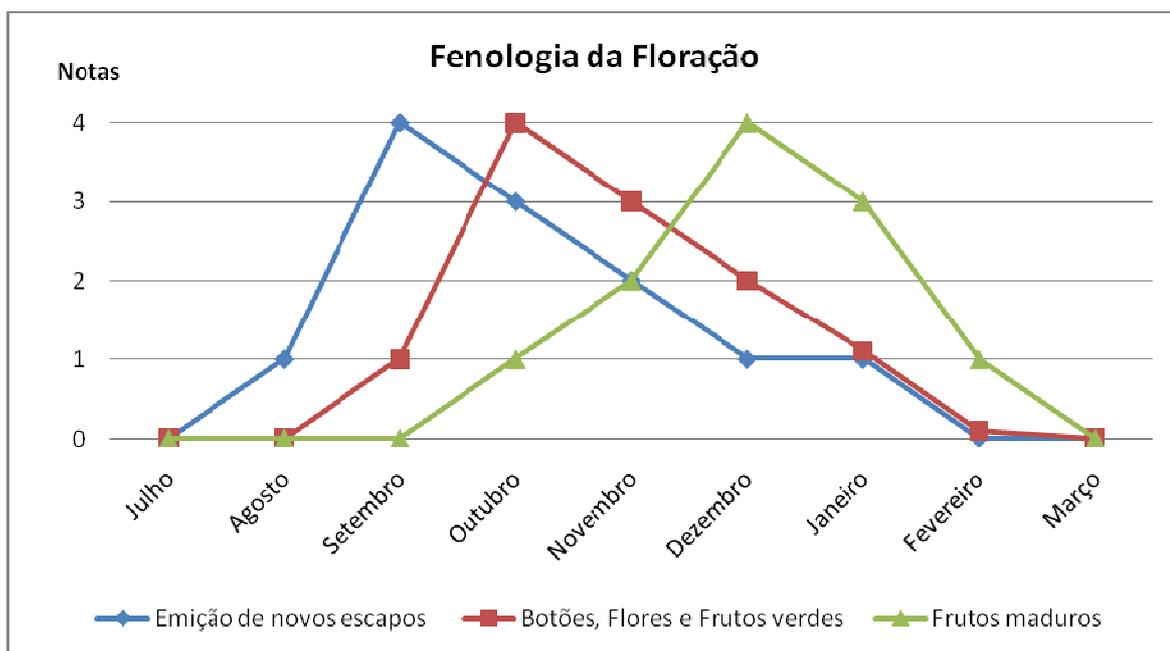
\* Valores médios ± desvio padrão e amplitude

### 3.2. DISPONIBILIDADE DE RECURSOS FLORAIS

O período de floração se estendeu desde o mês de setembro até o mês de janeiro e a deiscência dos frutos ocorreu de outubro a fevereiro (Figura 5). A floração não foi totalmente síncrona nos diferentes locais, sendo mais precoce em Florianópolis (CCB), provavelmente devido às maiores temperaturas.

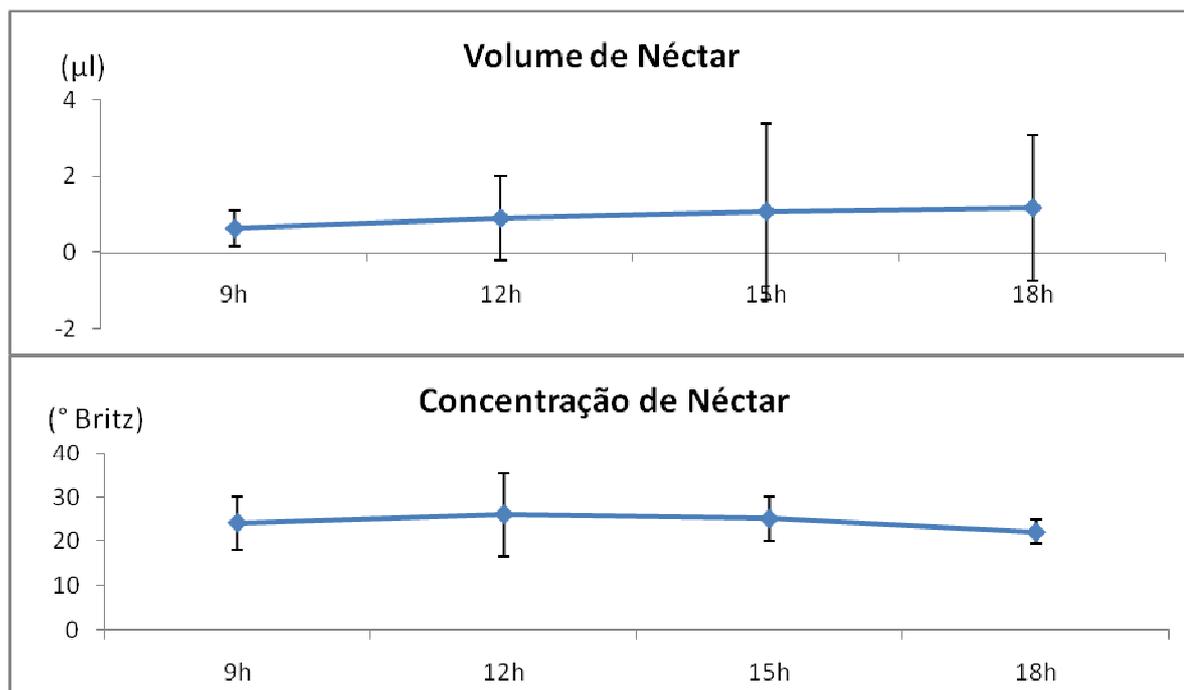
A antese ocorre sequencialmente da base para o ápice da inflorescência, sendo que as primeiras flores se abrem pela manhã e as últimas se abrem até o crepúsculo e duram cerca de um dia e meio. As inflorescências apresentaram de 0 a 7 ( $2,6 \pm 1,3$ ) flores abertas por dia. O ritmo de floração é mais acelerado no eixo principal das inflorescências do que nas ramificações, com a média  $2,6 (\pm 1,4)$  e  $0,6 (\pm 0,7)$  anteses por dia, respectivamente. A liberação de pólen ocorre no início da antese e eventualmente nos botões ainda fechados. A extensão da floração por inflorescência é de cerca de 16,4 dias, sendo que em uma mesma inflorescência podem ocorrer simultaneamente botões, flores em antese e frutos imaturos ou simultaneamente frutos imaturos e frutos maduros. A floração é mais extensa em

inflorescências ramificadas, pois o crescimento das ramificações e a abertura das flores nestas, em geral, ocorre após o termino das anteses no escapo principal. Observou-se que uma mesma roseta (*ramet*) pode emitir mais de uma inflorescência, aumentando consideravelmente a extensão de floração em um mesmo indivíduo e a espécie é policárpica, ou seja, floresce mais de uma vez sem causar a morte do indivíduo.



**Figura 5.** Fenologia da floração de *Dyckia distachya* Hassler no período de Julho de 2007 a Março de 2008. A intensidade das fenofases foi classificada de acordo com Fournier (1975): 0 – nenhuma touceira; 1 – 1 a 25% das touceiras; 2 – 26-50%; 3 – 51-75%; 4 – 76-100%.

A produtividade de néctar diária foi em média de  $3,8 \pm 3,9 \mu\text{l}$  por flor (Figura 6). O maior volume médio foi verificado às 18h ( $1,17 \mu\text{l}$ ), seguido das 15h ( $1,08 \mu\text{l}$ ), 12h ( $0,91 \mu\text{l}$ ) e 9h ( $0,64 \mu\text{l}$ ) (Figura 6). O volume de néctar das flores individualmente foi bastante variável, de 0 a  $5,27 \mu\text{l}$ . A concentração média do néctar foi  $24,4^\circ\text{Brix}$ , variando  $14,5$  a  $50^\circ\text{Brix}$ . Ao longo do dia a concentração variou inversamente ao volume do néctar diminuindo a partir das 12h.



**Figura 6.** Volume e concentração de néctar em flores de *Dyckia distachya* Hassler, ao longo do dia (valores médios e desvio padrão de 18 flores). Estudo realizado no Viveiro de Machadinho.

As flores também possuem nectários extraflorais, podendo ser verificadas gotículas de néctar na parte externa das sépalas no início da manhã. Este néctar era visivelmente mais viscoso, mas não foi medida sua concentração.

### 3.3. SISTEMA REPRODUTIVO

A produtividade de frutos foi maior para a polinização livre e polinização cruzada (Itá), intermediária para auto-polinização (BG) e auto-polinização espontânea (Itá) e baixa para apomixia e demais testes de autopolinização (Tabela 5).

A germinação de sementes relativamente alta para a polinização livre e polinização manual e nula para apomixia e os testes de auto-polinização, com exceção de auto-polinização espontânea (Itá) (Tabela 5).

**Tabela 5.** Resultados do experimento de sistema reprodutivo em *Dyckia distachya* Hassler em indivíduos de diferentes regiões de origem (Itá, Machadinho e Barra Grande – BG).

<b>Tratamento – Região de origem</b>	<b>Formação de frutos*</b>	<b>%</b>	<b>Germinação de sementes **</b>	<b>%</b>
Polinização livre (Controle) - Itá	28 / 42	66,7	171 / 400	42,75 (±28,65)
Polinização cruzada - Itá	17 / 30	56,7	147 / 400	36,75 (± 6,70)
Apomixia - Itá	1 / 31	3,2	0 / 83	0
Autopolinização - Itá	1 / 31	3,2	0 / 74	0
Autopolinização - BG	3 / 9	33,3	0 / 100	0
Autopolinização - Machadinho	0 / 8	0	---	---
Autopolinização Espontânea - Itá	84 / 405	20,7	5 / 400	1,25 (± 1,50)
Autopolinização Espontânea - BG	1 / 111	0,9	0 / 22	0

\* Frutos formados sobre o total de flores manipuladas

\*\* Sementes germinadas sobre o total

### 3.4. ECOLOGIA DA POLINIZAÇÃO

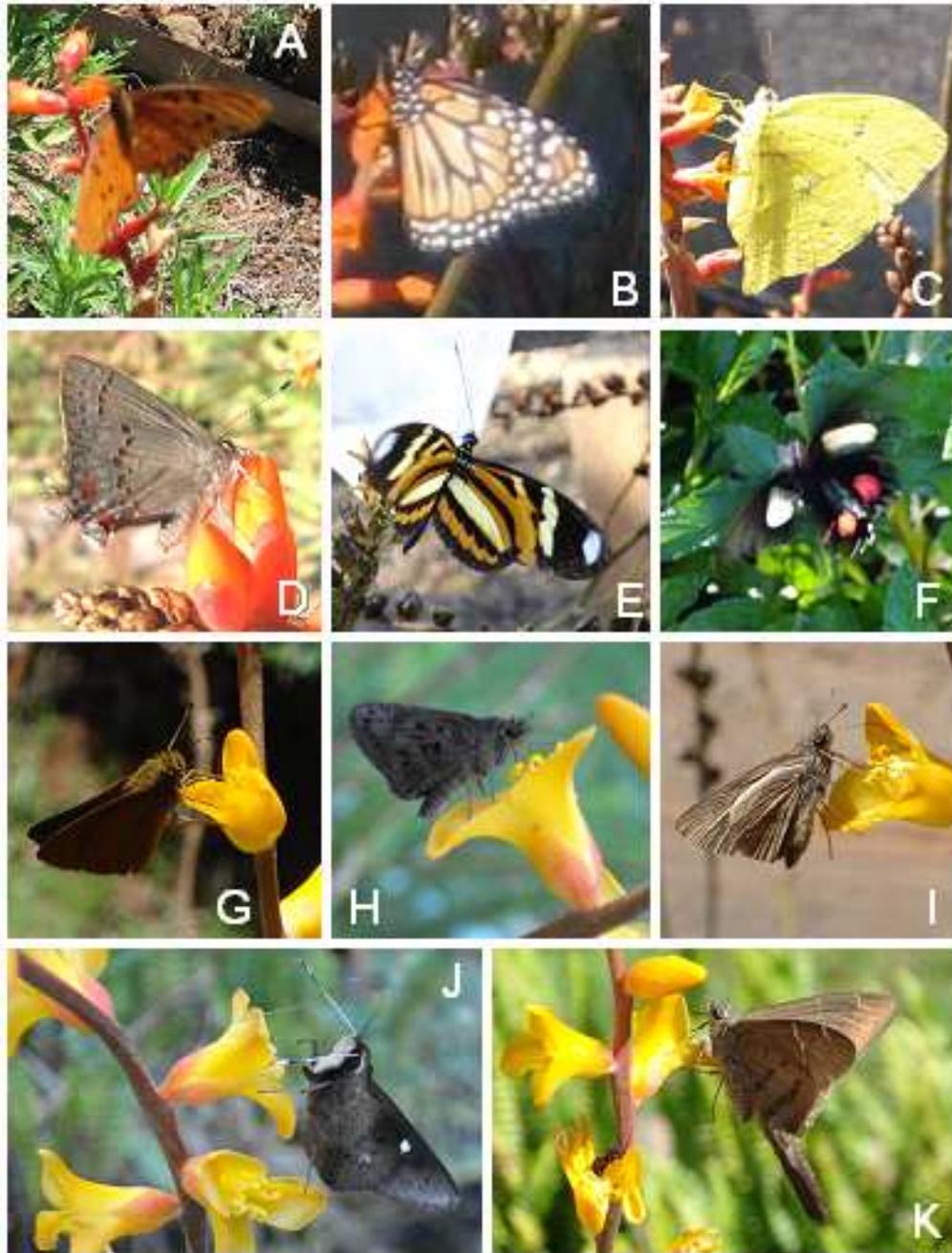
Foram observadas 20 espécies de visitantes florais para a espécie, incluindo abelhas (Hymenoptera), borboletas (Lepidoptera), moscas (Diptera) e beija-flores (Trochiliformes) (Tabela 6, Figura 8 e 9).

Foi observada uma grande variação nas frequências e comportamento dos visitantes entre os diferentes locais *ex situ* (Tabela 6). Houve o predomínio de Borboletas no Horto Florestal (92% das visitas), beija-flores no Viveiro de Campo Belo do Sul (71%), grandes abelhas na Usina Hidrelétrica de Barra Grande (57%), beija-flores e abelhas de pequeno porte no Viveiro de Machadinho (46% e 29%), borboletas e grandes abelhas no Parque Fritz Plaumann (50% e 33%) e apenas abelhas grandes na Relocação no Uvã.

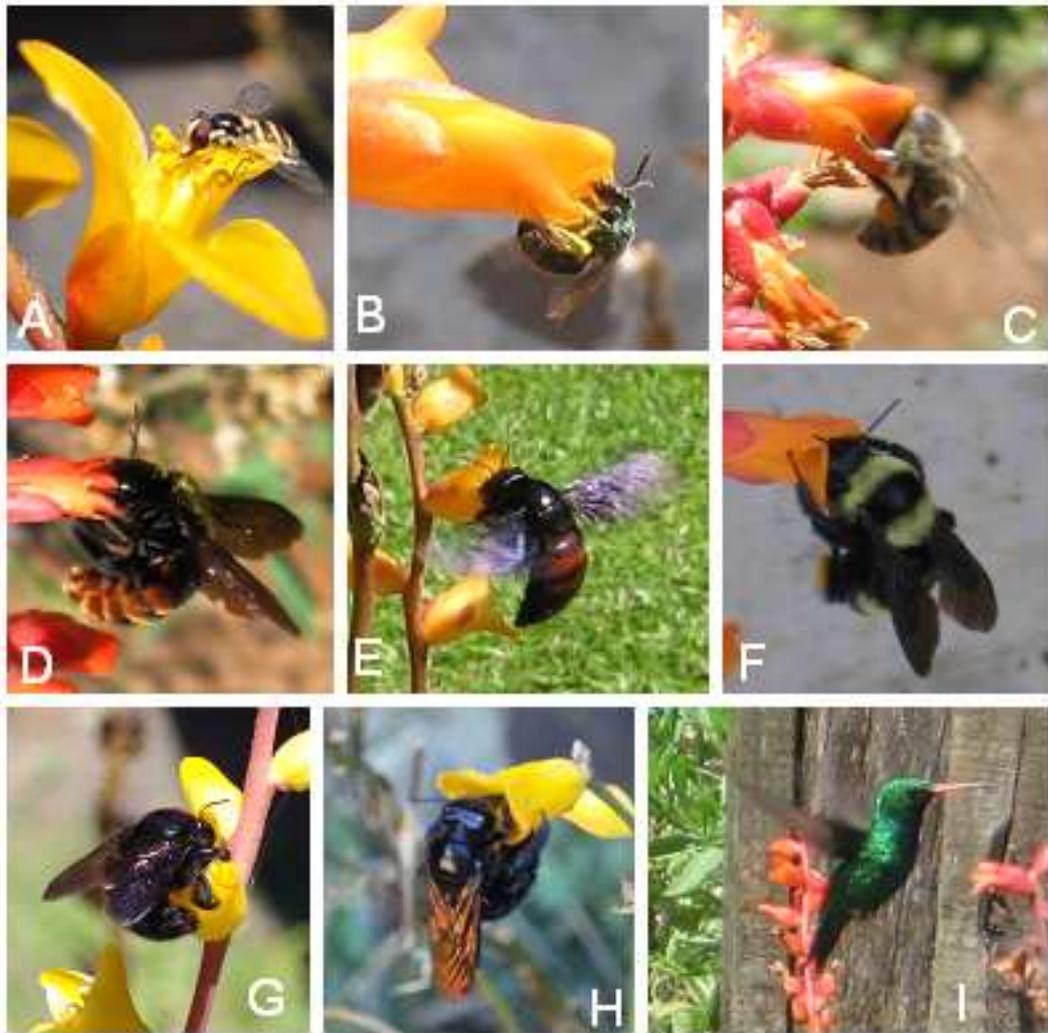
**Tabela 6.** Visitantes florais em *Dyckia distachya* Hassler e o número de visitas em diferentes locais *ex situ*. Os números entre parênteses correspondem a observações eventuais fora do período de observação focal. Siglas dos locais *ex situ* de acordo com a Tabela 1.

ORDEM / Família	Espécie	Locais de Estudo						Tot.
		HF	PFP	RU	VM	UHE-BG	VCBS	
<b>TROCHILIFORMES</b> * <sup>1</sup>		--	--	--	--	--	--	
Trochilidae	<i>Chlorostilbon lucidus</i> (Shaw 1812)	--	--	--	11	20	41	72
<b>HYMENOPTERA</b> * <sup>2</sup>		3	3	3	10	56	11	86
Apidae (Apinae)	<i>Apis mellifera</i> (Linnaeus 1758)	--	1	--	--	4	7	12
Apidae (Bombinae)	<i>Bombus (Fervidobombus) atratus</i> (Franklin 1913)	1	(1)	--	3	49	--	54
Anthophoridae (Xylocopinae)	<i>Xylocopa (Neoxylocopa) cf. augusti</i> (Lepeletier 1841)	--	--	--	--	--	4	4
	<i>Xylocopa (Megaxylocopa) cf. frontalis</i> (Olivier 1789)	1	(1)	--	--	--	--	2
	<i>Xylocopa</i> sp 01	(1)	--	--	--	--	--	4
	<i>Xylocopa</i> sp 02			3				
Halictidae (Halictinae)	Tribo Augochlorini	--	--	--	7	3	--	10
<b>DIPTERA</b>		1	--	--	--	--	--	2
Não identificada	Diptera sp 01	1	--	--	--	--	--	1
<b>LEPIDÓPTERA</b>		46	3	0	2	10	6	67
Não identificada	Lepidoptera sp 01	--	--	--	1	--	--	1
	Lepidoptera sp 02	1	--	--	--	--	--	1
	Lepidoptera sp 03	8	--	--	--	--	--	8
Hesperiidae (Hesperiinae)	Hesperiidae sp 01	7	--	--	--	--	--	7
	Hesperiidae sp 02 e sp 03	15	3	--	--	--	--	18
Hesperiidae (Pyrginae)	<i>Urbanus</i> sp.	12	--	--	--	--	--	12
Papilionidae (Papilioninae)	<i>Parides</i> sp.	2	--	--	--	--	--	2
Nymphalidae (Heliconiinae) * <sup>3</sup>	<i>Agraulis vanillae maculosa</i> (Stichel, [1908])	--	--	--	--	--	4	4
	<i>Danaus erippus</i> (Cramer, 1775)	--	--	--	--	3	--	3
Pieridae (Coliadinae) * <sup>3</sup>	<i>Phoebis neocypris</i> (Hübner, 1823)	(1)	--	--	1	4	--	6
Lycaenidae (Theclinae) * <sup>4</sup>	<i>Strymon rufofusca</i> (Hewitson, 1877)	--	--	--	--	3	2	5
<b>TOTAL</b>		50	6	3	23	86	58	226

\*Identificação: <sup>1</sup> Vitor Q. Piacentini; <sup>2</sup> Rafael Kamke; <sup>3</sup> André Victor Lucci Freitas; <sup>4</sup> Marcelo Duarte



**Figura 9.** Visitantes florais Lepidoptera em *Dyckia distachya* Hassler: A- *Agraulis vanillae maculosa*; B- *Danaus erippus*; C- *Phoebis neocypris*; D- *Strymon rufofusca*; E- Lepidoptera sp 01; F- *Parides sp.*; G- Hesperinae sp 01; H- Hesperinae sp 02; I- Hesperinae sp 03; J- Lepidoptera sp 02; K- *Urbanus sp.*



**Figura 8.** Visitantes florais de *Dyckia distachya* Hassler: A- Díptera; B- Augochlorini; C- *Apis melifera*; D- *Xylocopa* cf. *augusti*; E- *Xylocopa* cf. *frontalis*; F- *Bombus atratus*; G- *Xylocopa* sp.1; H- *Xylocopa* sp.2; I- *Chlorostilbon lucidus*.

As borboletas *Strymon rufofusca*, *Agraulis vanillae maculosa*, *Danaus erippus*, Sp1, em geral permaneciam muito tempo pousadas nas inflorescências e apenas eventualmente visitavam as flores. As borboletas *Phoebis neocypris*, *Urbanus* sp. e as Hesperinae visitavam as flores sistematicamente passando de uma flor para outra tocando as patas nas estruturas reprodutivas da flor. *Parides* sp. apareceu poucas vezes mas foi diretamente em direção as flores, visitando mais de uma inflorescência no mesmo local.

As mamangavas (*Bombus atratus*, *Xylocopa* spp.), visitaram as flores a procura de néctar. As visitas foram rápidas, visitando todas as flores abertas de cada inflorescência antes

de passar para outra planta. Apenas *Bombus atratus* foi observada coletando pólen e armazenando nas curbículas, permanecendo mais tempo nas flores. A abelha da Tribo *Augochlorini* entrava no interior das flores para coletar néctar, permanecendo por cerca de um minuto e se deslocava coberta por pólen passando para outras flores, ou apenas coletava o pólen nas anteras permanecendo mais tempo em uma mesma flor.

Todos os beija-flores *Chlorostilbon lucidus* observados eram machos, e realizaram visitas a cada uma hora aproximadamente. As visitas eram rápidas, passando por quase todas as flores disponíveis, em uma mesma seqüência em cerca de um minuto. Os beija-flores acessam o néctar inserindo o bico no interior do tubo estaminífero tocando nas anteras (que tem deiscência introrsa) que ficam visivelmente afastadas após a visita. Apenas no Viveiro de Capó Belo do Sul, que possuía a maior concentração de flores, cerca de quatro indivíduos machos permaneceram constantemente na área, apresentando comportamento territorialista com a chegada de outros beija-flores.

Além de destes visitantes foram observadas diversas formigas (Hymenoptera - Formicidae), vespas (Hymenoptera - Vespidae), ácaros (Acarina) e pulgões (Homoptera), na parte externa das flores ou no interior das flores, e *Trigona spinipes* (Fabricius 1793) (Hymenoptera - Apidae) e *Diabrotica speciosa* (Germar 1824) (Coleóptera -Chrysomelidae) foram observadas predando as flores (Figura 10). Especialmente no Centro de Ciências Biológicas da UFSC, logo após o plantio das mudas já adultas e em floração, houve visitaçãõ por abelhas *Trigona spinipes*, que e abriram as flores em botão para pilhar pólen, destruindo a maior parte das flores no local. Na Usina Hidrelétrica Barra Grande foi observada *Diabrotica speciosa*, herbivorando parte da corola e antera das flores.



**Figura 10.** Fauna associada às inflorescências ou flores de *Dyckia distachya* Hassler: A- *Trigona spinipes*; B- pulgão C- formigas; D- *Diabrotica speciosa*; E- ácaros; F- vespa.

### 3.5. EFETIVIDADE DA POLINIZAÇÃO EM CONDIÇÕES *EX SITU*

A produtividade de frutos nos diferentes locais de conservação da espécie foi alta, com exceção do RU, em 2007; e no CCB-M (Tabela 6).

**Tabela 6.** Formação de frutos e germinação de sementes nos diferentes locais de conservação de *Dyckia distachya* Hassler nos anos de 2006 (HF-06 e RU-06) e 2007 (todos os demais locais). n= número de inflorescências amostradas; GS= germinação de sementes.

	Local	n	Nº Frutos formados / Infl.*	% Frutos formados / Infl.*	% GS
Itá	HF- 06	14	61 ± 43 (0-138)	90 ± 9,5 (74- 100)	65,3
	HF	30	46 ± 24 (11-99)	76,5 ± 14,7 (34-92)	79,3
	RU- 06	16	41 ± 34 (5-127)	45,4 ± 23,3 (9- 80)	---
	RU	28	1,9 ± 3,2 (0-15)	6,2 ± 15,6 (0-37)	82,5
	PFP	30	62 ± 42 (10-207)	73,2 ± 13,5 (44-93)	84,3
	CCA	8	11 ± 4,6 (6-18)	56 ± 24,6 (12-89)	60,5
Mach	VM	20	27 ± 11 (5-51)	79,7 ± 11,7 (57- 97)	83
	RM	7	7,4 ± 3,4 (5-12)	56,3 ± 14,1 (28- 77)	86
	CCB	14	1,6 ± 2 (0-6)	7,7 ± 9,5 (0-29)	92,8
BG	VCBS	31	33 ± 16 (8-78)	67 ± 19 (21-100)	62,5
	UHE	30	30 ± 14 (9-75)	78 ± 14 (41-100)	87
	CCB	21	24 ± 10 (1-38)	53,7 ± 21,6 (4-94)	30,3

\* Valores médios ± desvio padrão e amplitude

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. BIOLOGIA REPRODUTIVA DA ESPÉCIE

*D. distachya* apresentou padrão de floração anual (Newstrom & Frankie 1994) com disponibilidade regular de flores (Gentry 1974) por um longo período (cinco meses).

A espécie possui a característica de emitir brotações laterais nas inflorescências mais de um escapo floral por indivíduo, que lhe confere o epíteto *distachya* (do grego: *dis-* dois, *stachys-* espiga) (Reitz 1983). A emissão de dois ou mais escapos consecutivos aumentam consideravelmente o período de floração por indivíduo. Entretanto a emissão de até oito escapos simultâneos por roseta observado para o Viveiro de Campo Belo do Sul provavelmente se deve ao efeito da adubação realizada neste local, não sendo observado nos demais locais.

Essas características, juntamente com o baixo número de anteses por indivíduo por dia (em média 2,6), a baixa durabilidade das flores (1,5 dias), e a antese seqüencial do eixo principal da inflorescência e depois ramificações, diminui as chances de gueitonogamia e aumenta as probabilidades de ocorrer polinização cruzada (xenogâmia).

Além disto, a espécie apresenta auto-incompatibilidade, que também evita a polinização entre diferentes indivíduos do mesmo *gênet*, gerados por reprodução clonal. O mecanismo de auto-incompatibilidade provavelmente é pós-zigótico, considerando que em mecanismos de auto-incompatibilidade tardia, os frutos muitas vezes são formados, mas produzem, em sua imensa maioria, sementes inviáveis (Seavey & Bawa 1986).

O volume de néctar encontrado foi relativamente baixo se comparado a um grande número de bromélias estudadas (Siqueira-Filho & Machado 2006, Machado & Semir 2006) e a maior parte das espécies de *Dyckia* (Tabela 7). Entretanto, foi semelhante ao observado para algumas espécies meliófilas como *Catopsis berteroniana* (5,12  $\mu$ l) e *Lymania smithii* (2,27  $\mu$ l) e espécies ornitófilas como *Vriesea ensiformis* (3,25  $\mu$ l), *Tillandsia bulbosa* (4,33  $\mu$ l), *T. gardneri* (2,71  $\mu$ l), *T. tenuifolia* (3,29  $\mu$ l) (Siqueira-Filho & Machado 2006) e *Dyckia floribunda* (6,3  $\mu$ l) que é uma espécie ornitófila também visitada por borboletas e *Apis mellifera* (Galletto & Bernardello 1992).

Segundo Siqueira-Filho e Machado (2006), existe correlação entre a síndrome de polinização e o volume de néctar secretado em bromélias. Espécies meliófilas secretam em média  $5,8 \pm 3,1$   $\mu$ l/dia/flor (n=6), espécies ornitófilas  $26,6 \pm 25,5$  (n=18) e espécies quiropterófilas  $288,4 \pm 313,1$  (n=3). Portanto, *D. distachya* secreta um volume de néctar adequado para abelhas, mas volumes relativamente pequenos para beija-flores. “Flores de insetos”, com corolas pequenas e baixas recompensas de néctar, eventualmente também atraem beija-flores. Neste caso, os beija-flores, que geralmente são de pequeno porte e possuem bicos relativamente curtos, apresentam comportamentos do tipo “*trap-line* de baixa

recompensa”, “generalista” ou “territorialista”, de acordo com a densidade de flores no local (Feinsinger & Colwell 1978). O comportamento, caracterizado como *trap-line*, otimiza o consumo de néctar pelas espécies de maior porte, mas não inviabiliza a visitação posterior por espécies de menor porte para as quais mesmo uma pequena quantidade de néctar pode ser recompensat ria. Ao mesmo tempo se a densidade de floração for grande o suficiente, de modo a não limitar os recursos, mesmo os polinizadores de maior porte podem permanecer constantemente na área e apresentar comportamento territorialista (Roubik 1989). Em *D. distachya*, portanto, o baixo volume individual, é compensado pelo grande volume de flores na população, que justificam a atração de beija-flores em alguns locais, e também a visitação por invertebrados.

As concentrações de néctar também vêm sendo relacionadas às guildas de polinização, e, segundo uma revisão de Pyke e Waser (1981), incluindo 490 espécies de plantas, a concentração do néctar é inversamente proporcional ao tamanho dos polinizadores, embora exista uma enorme sobreposição dos padrões em espécies polinizadas por vertebrados e invertebrados. Os autores encontraram a concentração média de açucares de 42% para flores polinizadas por abelhas, 29% por borboletas, 22% por moscas, 25% por beija-flores e 19% por morcegos. Bromélias costumam secretar néctar mais concentrados elevando as medidas de concentração na comunidade, para guildas ornitófilas, quipter filas e meliófilas (*apud* Siqueira-filho & Machado 2006).

Portanto, a concentração de néctar de *D. distachya*   compatível com a grande variedade de visitantes florais encontrada.

A morfologia das flores de *D. distachya*, com tubos relativamente curtos e não muito estreitos,   característica de espécies generalistas, porque tornam o néctar acessível a uma variada guilda de polinizadores (Faegri & Piji 1971). Em bromélias, flores de tubos longos estão geralmente associadas a beija-flores de bico longo (Machado & Semir 2006), enquanto

tubos curtos estão relacionados à polinização por abelhas ou mais de uma guilda de polinizadores (Siqueira Filho & Machado 2006), além da síndrome tipicamente quiropterofílica (Sazima *et al* 1989 e 1999). No gênero *Dyckia* as espécies estudadas apresentam corolas de comprimento inferior a 1,5 cm (Tabela 7), que é inferior a maior parte das espécies de Bromélias de ambiente florestal, conforme o observado por Siqueira-Filho e Machado (2006), e Machado e Semir (2006).

Em um estudo de modos de polinização em bromélias realizado em 74 ambientes florestais na Bolívia, Kessler e Krömer (2000) observaram uma maior frequência de espécies entomófilas em regiões mais secas e com maiores temperaturas e de espécies ornitófilas em regiões de maiores altitudes e menores temperaturas. Portanto o ambiente árido em que *D. distachya* ocorre pode ser mais favorável à presença de abelhas e restringir a presença de diversas espécies de beija-flores (que são mais associado a ambientes florestais), corroborando com o padrão de corolas de tubos curtos da espécie.

Comparando a morfologia floral das diferentes regiões de origem de *D. distachya*, foi verificada uma associação entre flores com o formato mais tubular e coloração avermelhada (de Machadinho e Barra Grande), com visitação por beija-flores e abelhas, e entre flores com formato de sino e coloração amarela (Itá), com borboletas, abelhas e díptera.

A variação na morfologia floral entre populações de uma mesma espécie pode estar associada à pressão seletiva de diferentes guildas de polinizadores, ou à mecanismos genéticos como deriva genética e introgressão gênica por hibridização (Martins 1987). Considerando os dados de genética e distribuição da espécie (Artigo 3) é possível que as populações de Barra Grande e Machadinho, tenham sofrido diferentes graus de introgressão por hibridização com *D. tuberosa*, herdando características florais desta espécie. Está hipótese, embora não tenha sido comprovada, parece mais provável do que a hipótese de

pressão seletiva, principalmente devido a característica generalista da polinização nesta espécie.

Entretanto, além da morfologia floral, outros fatores influenciam a escolha dos polinizadores por uma determinada espécie de planta. Fatores como padrão de floração da comunidade, densidade da floração, presença de outras espécies competindo pelos recursos florais, podem ser determinantes, resultando em variações na composição de visitantes nos diferentes locais e ao longo do tempo.

**Tabela 7.** Morfologia floral e características reprodutivas no gênero *Dyckia* (Bromeliaceae).

Espécie	C.T	D.T	A	G	V.N	C.N	S.R.	C	Polinizadores	Referência Bibliográfica
<i>D. distachya</i>	<b>0,80</b>	<b>0,55</b>	<b>1,26</b>	<b>0,86</b>	5,7*	24,4	AI			Este estudo
Ita	0,74	0,63	1,35	0,87	---	---	AI	Amarela	Abelhas, Borboletas	
Machadinho	0,76	0,52	1,22	0,92	5,7*	24,4	AI	Vermelha, Laranja	Abelhas, Beija-flores	
Barra Grande	0,91	0,50	1,21	0,80	---	---	AI	Vermelha, Laranja	Beija-flores, Abelhas	
<i>D. brevifolia</i>	0,79	0,56	1,24	0,84	14,2	39,9	AC	Amarela	Beija-flores, Abelhas, Borboletas	Rogalski 2007
<i>D. ibiramensis</i>	0,89	0,45	1,20	0,89	27,8	22,38	AIP	Amarela, Laranja	Abelhas, Beija-flores	Hmeljevsky 2007
<i>D. tuberosa</i>	1,23	0,50	1,08	0,82	24,8		AC	Laranja	Abelhas, Beija-flores	Vosgueritchian & Buzato 2006
<i>D. encolirioides</i>	----	----	----	----	----	----	----	Laranja	Abelhas, Beija-flores	Guerra & Orth 2003
<i>D. floribunda</i>	----	----	----	----	6,3	33,9	----	Amarela	Beija-flores, Borboletas e <i>Apis mellifera</i>	Galetto & Bernardello 1992
<i>D. ragonesei</i>	----	----	----	----	43,2	45,2	----	Laranja	Beija-flores	Galetto & Bernardello 1992

Siglas: C.T – comprimento do tubo floral; D.T. – diâmetro do tubo floral, A – comprimento do androceu; G – comprimento do gineceu, todos em cm; V.N. – volume de néctar (µl); S.N. – sistema reprodutivo; C – cor da flor.

\* volume acumulado estimado a partir do volume diário de 3,8 µl.

## 4.2. ECOLOGIA DA POLINIZAÇÃO E VISITANTES FLORAIS

As abelhas, especialmente de grande porte (*Bombus atratus* e *Xilocopa* spp.) ocorreram em todos os locais *ex situ* e aparentemente são um grupo chave para a polinização desta espécie.

A espécie de beija-flor encontrada, juntamente com as abelhas de grande porte, teve grande frequência de visitação nas populações provenientes de Machadinho e Barra Grande, e pelo seu comportamento parecem ser polinizadores efetivos importantes.

Dentre as espécies de borboletas é provável que a maior parte seja apenas pilhadora de néctar. A psicofilia é pouco comum em bromélias, e para diversas espécies vem sendo consideradas pilhadoras de néctar (Kaehler *et al.* 2005). As borboletas *Agraulis vanillae maculosa*, *Danaus erippus*, *Phoebis neocypris* e *Strymon rufofusca*, devido ao grande comprimento de suas probóscites, raramente tocam as flores e permanecem muito tempo em uma mesma inflorescência visitando poucas flores, mas eventualmente poderiam atuar como vetores de pólen. Já as mariposas diurnas (Hesperiinae) observadas visitando flores no Horto Florestal (Itá), eram de pequeno porte, frequentemente tocavam as flores com as patas e realizavam visitas sistemáticas às flores em diferentes inflorescências, provavelmente atuando como polinizadores efetivos.

Especialmente a borboleta *Strymon rufofusca*, observada em UHE-BG, ovoposita nas rosetas e inflorescências de *D. distachya*, e suas larvas se alimentam do mesófilo foliar e do interior dos escapos florais, causando inclusive a morte de diversos indivíduos em algumas reintroduções na região de Barra Grande (observações pessoais). Algumas espécies deste gênero possuem forte associação com bromélias, sendo inclusive praga em plantações de abacaxi (Robbins & Nicolay 2001). A *S. rufofusca* costuma ocorrer em ambientes abertos e possuir altas densidades populacionais nas suas áreas de ocorrência (Nicolay & Robbins 2005).

A presença de formigas nas inflorescências é uma relação mutualística freqüente no gênero *Dyckia* (Galletto & Bernardello 1991; Rogalski 2007, Hmeljvski 2007). Segundo Vesprini e colaboradores (2003), que estudou *D. floribunda*, as formigas se alimentam do néctar produzido nos nectários extra-nupciais e acabam por afugentar pilhadores de néctar, resultando em uma maior produtividade de sementes em indivíduos que apresentam esta interação. Embora este comportamento não tenha sido registrado para *D. distachya* é possível que exista esta mesma relação mutualista com as formigas.

#### 4.3. EFETIVIDADE DA POLINIZAÇÃO EM CONDIÇÕES *EX SITU*

Os dados de formação de frutos na maior parte dos locais de conservação indicaram que os visitantes florais foram capazes de realizar a polinização cruzada e que a espécie, neste aspecto, possui uma boa capacidade de adaptação.

A baixa produtividade na reintrodução do Passo Uvá indica que o baixo número de indivíduos (*genets*) e uma baixa quantidade de rosetas pode ser limitante para o sucesso da reprodução sexuada. Esta baixa produtividade provavelmente não esteve associada à falta de polinizadores, visto que foram vistas mamangavas (*Xylocopa* sp.) visitando as flores, mas provavelmente a baixa disponibilidade de indivíduos de diferentes genótipos (*genets*) para ocorrer cruzamentos (xenogamia). Além disso, a baixa disponibilidade de inflorescências torna o local menos atrativo para polinizadores e pode aumentar o risco de insucesso dos cruzamentos devido a fatores abióticos, como ocorrência de chuvas no período de floração. De fato após dez anos desta reintrodução, não foi verificado o recrutamento de novos indivíduos por sementes, embora este fato também possa estar associado à depressão endogâmica, devido ao cruzamento entre indivíduos aparentados, e, principalmente, à não disponibilidade de sítios propícios ao recrutamento de sementes.

Embora o gênero *Dyckia* normalmente esteja associado à dispersão anemocórica (Benzing 1980), nesta espécie, as sementes possuem dispersão hidrocórica. A transição da síndrome anemocórica para hidrocórica corresponde a um passo evolutivo simples também observado em outros gêneros em diversas famílias (Janson 1992). Em *D. distachya* as sementes possuem diferentes graus de flutuabilidade, germinam em condições de submersão, e inclusive as plântulas sobrevivem durante diversas semanas nestas condições, de modo que a dispersão poderia ocorrer tanto na forma de sementes quanto de plântulas (Wiesbauer *et al.* 2007). O mesmo fato também foi observado para as espécies reofíticas *D. ibiramensis* e *D. brevifolia* (dados não publicados), e nestas espécies o recrutamento ocorre especificamente sobre musgos nas frestas de rocha (Rogalski 2007, Hmeljevsky 2007). Portanto, as condições de dispersão e recrutamento parecem ser extremamente dependentes de condições de umidade características do ambiente reofítico.

Já a baixa produtividade de frutos observada em indivíduos provenientes de Machadinho no Centro de Ciências Biológicas, apenas reforça a necessidade de vetores bióticos para a polinização.

## **5. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A partir dos resultados deste estudo podemos concluir que a espécie *Dyckia distachya* tem síndrome de polinização generalista e em condições semi-naturais, como reintroduções ou viveiros junto a áreas naturais, atrai polinizadores efetivos não tendo problemas na produção de sementes. As únicas problemáticas na produtividade de sementes, e provavelmente também na diversidade genética das mesmas, ocorre em coleções ou reintroduções compostas de um baixo número de indivíduos geneticamente distintos, o que deve ser evitado já que a espécie é auto-incompatível.

Os diferentes locais de conservação tiveram diferentes guildas e diferentes comportamentos de polinizadores. Estas variações provavelmente estiveram associadas à morfologia floral da população conservada em cada local e à densidade de flores resultante da densidade de indivíduos plantados.

Aparentemente a variação na morfologia floral influencia o tipo de visitante floral, mas esta tendência deveria ser melhor testada, por exemplo expondo flores de diferentes morfologias em um mesmo ambiente e verificando se as diferentes guildas de polinizadores têm preferência por certa morfologia. Outro estudo que poderia ser feito é se os diferentes polinizadores são mais efetivos (resultam em uma maior produtividade de sementes) quando visitam um ou outro tipo de flor, e, portanto, se de fato existe a adaptação polinizador-população de *D. distachya*.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENZING, D. H. 1980. The biology of the bromeliads., Mad River Press, Eureka. 228 p.

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

DOWSETT, H.; ROBINSON, M.; DWYER, G.; CHANDLER, M. & CRONIN, T. 2006. Prism3.

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

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

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

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

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

GENTRY, A. H. 1974. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* 6: 64-68.

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

HMELJEVSKI, K.V. 2007. Caracterização reprodutiva de *Dyckia ibiramensis* Reitz, uma bromélia endêmica do Vale do Itajaí, SC. Dissertação de Mestrado na Universidade Federal de Santa Catarina. 60p.

JANSON, C.H. 1992. Measuring evolutionary constraints: a Markov model for phylogenetic transitions among seed dispersal syndromes. *Evolution* 46(1):136-158.

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

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

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

MARTINS, P. S. 1987. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação *in situ*. *IPEF* 35: 71-78.

NEWSTROM, L. E.; FRANKIE, G. W. e BAKER, H. G. 1994. A new classification for plant phenology based on flowering patterns of in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. *Biotropica* 26: 141-159.

- NICOLAY, S.S. & ROBBINS, R.K. 2005. Five new dry-area South American *Strymon* species (Lycaenidae: Theclinae) and their biogeographic significance. *Journal of Research on the Lepidoptera* 38: 35-49.
- PYKE, G. H. e WASER, N. M. 1981. The production of dilute nectars by hummingbird and honeyeater flowers. *Biotropica* 13(4): 260-270.
- REITZ, R. 1983. Bromeliáceas e a malária-bromélia endêmica. Flora Ilustrada de Santa Catarina. Herbário Barbosa Rodrigues. 856p.
- ROBBINS, R.K. & NICOLAY, S.S. 2002. An overview of *Strymon* Hubner (Lycaenidae: Theclinae: Eumaeini). *Journal of Research on the Lepidoptera* 55(3): 85-100
- ROGALSKI, J. M. 2007. Biologia da conservação da reófito *Dyckia brevifolia* Baker (Bromeliaceae), Rio Itajaí-Açu, Santa Catarina. Tese de Doutorado na Universidade Federal de Santa Catarina. 93 p.
- ROUBIK, D. W. 1989. *Ecology and natural history of tropical bees*. Cambridge Tropical Biology Series. Cambridge University Press, London.
- SEAVEY, S.R. & BAWA, K.S. 1986. Late-actin Self-incompatibility in Angiosperms. *The Botanical Review* 52(2): 195-219.
- SIQUEIRA-FILHO, J. A. e MACHADO, I. C. S. 2006. Floração e polinização das bromélias da Mata Atlântica nordestina. In: SIQUEIRA-FILHO, J. A. e LEME, E. M. C. Fragmentos de Mata Atlântica do Nordeste; biodiversidade, conservação e suas bromélias. Andrea Jakobsson Estúdio. Rio de Janeiro. pp. 159-189.
- STEEL, R. G. D. e TORRIE, J. H. 1980. Principles and procedures of statistics: a biometrical approach. 2ed. McGraw-Hill Book Company, New York.
- VESPRINI, J. L.; GALETTO, L. e BERNARDELLO, G. 2003. The beneficial effect of ants on the reproductive success of *Dyckia floribunda* (Bromeliaceae), an extrafloral nectary plant. *Canadian Journal of Botany* 81: 24-27.
- WIESBAUER, M. B.; SCARIOT, E. C. SASAKI, L. L. & REIS, A. 2007. Influência da luz e inundação na germinação de *Dyckia distachya* Hassler, uma bromélia em vias de extinção. Nota Científica. *Revista Brasileira de Biociências* v.5, supl. 1: 717-719.

## CAPÍTULO 3

### Estudo de diversidade genética de *Dyckia distachya* Hassler (Bromeliaceae) como subsídio para conservação e reintrodução das populações extintas na natureza



## 1. INTRODUÇÃO

*Dyckia distachya* Hassler é uma bromélia exclusiva de ambientes reofíticos, como ilhas ou margens rochosas de corredeiras, endêmica do Rio Uruguai, fronteira entre Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Devido ao seu tipo de habitat, encontra-se ameaçada de extinção, sendo que a maior parte de suas populações já foi extinta na natureza devido à construção de três grandes empreendimentos hidrelétricos na região de Itá, Machadinho e Barra Grande. Na época da construção das hidrelétricas, parte das populações foram resgatadas e mantidas em coleções *ex situ*, as quais representam uma fonte valiosa de material para a reintrodução na natureza. Atualmente tem-se registro da espécie na natureza apenas na fronteira entre Brasil e Argentina (Reis *et al* 2005).

Em ambos os lados da fronteira, as corredeiras estão em áreas naturais protegidas. No lado argentino estão no Parque Provinciano Moconá (Lei 2.854/91), de 1.000 ha, que insere-se na Reserva de Biosfera Yabotí (Lei 3.041), abrangendo 223.000 ha. Em território brasileiro, elas estão dentro da área do Parque Estadual do Turvo, de 40.600 ha ([http://www.viajoporargentina.com/misiones/obera/el\\_soberbio\\_por.htm](http://www.viajoporargentina.com/misiones/obera/el_soberbio_por.htm)).

Diante desta situação, se fez necessário o estabelecimento de uma estratégia de conservação envolvendo conservação *ex situ* e relocações das populações extintas na natureza. Quando são delineadas estratégias de reintrodução ou relocação de espécies algumas decisões devem ser tomadas. É oportuno que sejam discutidas questões como: (1) qual o número mínimo de indivíduos que deve ser utilizado; (2) as populações devem ser mantidas puras ou misturadas. Neste sentido, estudos que busquem compreender os processos microevolutivos, como a distribuição da variabilidade genética entre e dentro das populações e estimativas de fluxo gênico entre populações são fundamentais para o delineamento de estratégias de manejo de populações e espécies (Reis 1996).

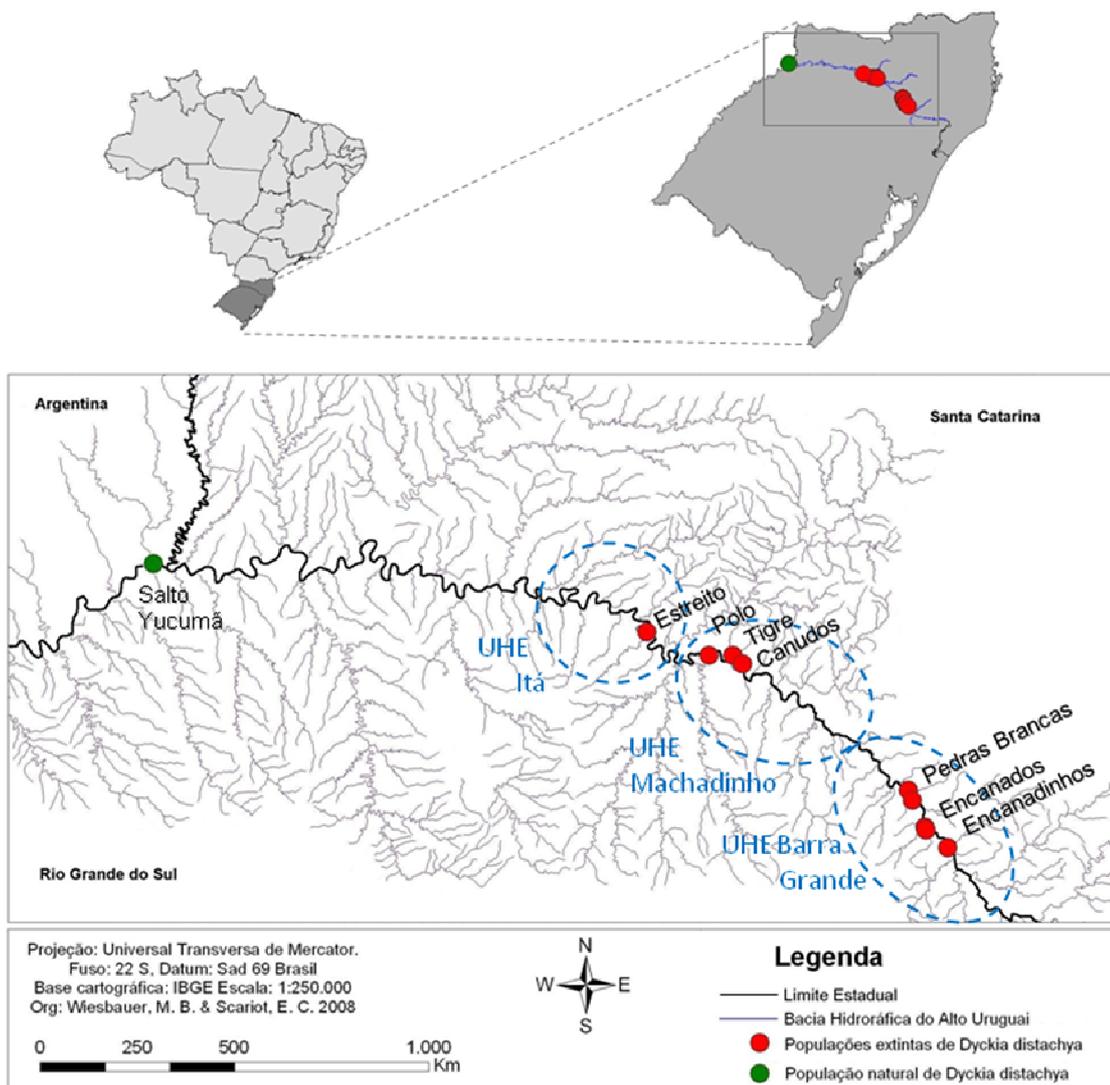
Buscando responder estas questões foram realizados estudos de diversidade e estrutura genética das coleções mencionadas e proposto um conjunto de estratégias de conservação para a espécie.

## **2. METODOLOGIA**

### **2.1. POPULAÇÕES DE ESTUDO**

Os estudos de diversidade genética buscaram avaliar as principais coleções geradas a partir das populações extintas na natureza: 1) região de Itá, 2) Machadinho, 3) três populações extintas de Barra Grande (Pedras Brancas, Encanados e Encanadinhos) (Figura 1).

As coleções provenientes da área de influência direta da Usina Hidrelétrica de Itá correspondem a diferentes coletas de uma população que era distribuída ao longo do *Estreito Augusto Cesar*, no rio Uruguai. O Estreito correspondia a um cânion com 8.900 metros de extensão e que foi completamente submerso com a construção da Hidrelétrica. As coleções incluem: Horto Florestal (HF) em Itá/SC, com duas grandes touceiras formadas a partir cerca de 16 indivíduos coletados diretamente do rio e suas brotações e mudas produzidas por sementes (Jusselei Perim, funcionário da Tractebel, com. pess.); coleção cultivada em um quiosque em Marcelino Ramos (MR), em que foram resgatadas mudas diretamente do estreito do Rio Uruguai; e coleção do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) no Centro de Ciências Agrárias da UFSC (CCA), que resgatou cerca de cinco indivíduos a cada 30 m, ao longo de 500 m no Rio Uruguai (Pompelli & Guerra 2004).



**Figura 1.** Bacia hidrográfica do Alto Uruguai com a localização das populações naturais de *Dyckia distachya* Hassler e as áreas de influência direta das Usinas Hidrelétricas (UHE) de Itá, Machadinho e Barra Grande. As populações em vermelho foram extintas na natureza em 2000 (Itá), 2002 (Machadinho) e 2005 (Barra Grande).

A coleção de Machadinho provém de uma mistura de quatro populações sob a área de influência da UHE de Machadinho e localiza-se no Viveiro da Bourscheid em Machadinho (VM), correspondendo ao único material remanescente desta região.

As coleções de Barra Grande conservam amostras das três populações sob área de influência direta da Usina Hidrelétrica de Barra Grande, que foram mantidas separadas e com

identificação de origem. Amostras das três populações foram coletadas diretamente do rio e conservadas no Viveiro de Campo Belo do Sul (VCBS) administrado pela Bourscheid Engenharia e Meio Ambiente S.A.; e outras amostras das populações de Encanados e Encanadinhos foram coletadas do rio e conservadas no Centro de Ciências Biológicas da UFSC (CCB).

O número estimado de *gênets*, que corresponde ao número de touceiras em que foram realizadas as coletas de material para formar cada coleção (número de indivíduos genéticos), e *ramets*, que corresponde ao número total de plantas que formaram as coleções, encontram-se na Tabela 1.

## 2.2. CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA

Para a caracterização genética foram utilizadas amostras variáveis, de acordo com o número original de indivíduos ou touceiras coletadas do rio em cada coleção (Tabela 1).

**Tabela 1.** Números amostrais (n) nas principais coleções *ex situ* de *Dyckia distachya* Hassler, que foram analisadas através de marcadores alozímicos.

Pop. de Origem	Coleção <i>ex situ</i>	Sigla	G	R	n
Itá	Horto Florestal	HF	16	S.I.	16
	Quiosque em Marcelino Ramos	MR	S.I.	S.I.	27
	Centro de Ciências Agrárias UFSC	CCA	101	101	61
Machadinho	Viveiro de Machadinho	VM	S.I.	$\pm$ 4000	50
Pedras Brancas	Viveiro de Campo Belo do Sul	VCBS-PB	48	3977	49
Encanados	Viveiro de Campo Belo do Sul	VCBS-E	>22	14063	52
	Centro de Ciências Biológicas UFSC	CCB-E	50	50	60
Encanadinhos	Viveiro de Campo Belo do Sul	VCBS-Enh	5	683	10
	Centro de Ciências Biológicas UFSC	CCB-Enh	49	49	49
TOTAL					374

G= número estimado de *gênets* que formam a coleção (indivíduos provenientes de touceiras diferentes e supostamente geneticamente distintos); R= número de *ramets* que formam a coleção (numero total de indivíduos, inclusive indivíduos clonais). S.I.= sem informações.

Os marcadores utilizados foram aloenzimas, conforme as metodologias estabelecidas por Kephart (1990) e Alfenas (1998) e as rotinas do laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento Genético Vegetal (LFDGV), no Centro de Ciências Agrárias da UFSC. A técnica utilizada foi de eletroforese horizontal em gel de amido de milho (Penetrose 30) na proporção 13%, e solução tampão gel/eletrodo Tris-Citrato (TC) pH 7,5. Para a extração das enzimas foram utilizados tecidos da epiderme abaxial do ápice foliar, macerados com areia estéril, PVPP e três gotas da solução número 01 de Alfenas *et al.* (1998). Foram revelados dez sistemas isoenzimáticos: Esterase Fluorescente (EC 3.1.1.1; loco FES-1), Glutamato Oxaloacetato Transaminase (EC 2.6.1.1; loco GOT-1), Glutamato Desidrogenase (EC 1.4.1.3; loco GTDH-1), Isocitrato Desidrogenase (EC 1.1.1.42; loco IDH-1), Malato Desidrogenase (EC 1.1.1.37; loco MDH-2), Fosfoglucoose Isomerase (EC 5.3.1.9; loco PGI-1), Fosfoglucomutase (EC 5.4.2.2; loco PGM-1); Peroxidase (E.C. 1.11.1.7; loco PRX-1); Xiquimato Desidrogenase (E.C. 1.1.1.25; loco SKDH-1); Superóxido Dismutase (EC 1.15.1.1; loco SOD-1).

Para cada coleção *ex situ* e para cada local de origem foram estimados no programa Fstat (Goudet 1995) os seguintes índices de diversidade genética: percentagem de locos polimórficos ( $\hat{P}_{99\%}$ ), número médio de alelos por loco ( $\hat{A}$ ), número médio de alelos efetivos por loco ( $\hat{A}_e$ ), heterozigosidade observada ( $\hat{H}_o$ ), heterozigosidade esperada segundo o equilíbrio de Hardy-Weinberg ( $\hat{H}_e$ ) a partir da estimativa não viesada de Nei (1978) e índice de fixação ( $\hat{f}$ ). O tamanho efetivo populacional ( $\hat{N}_e$ ) foi estimado a partir da fórmula  $\hat{N}_e = \frac{n}{1+\hat{f}}$  conforme Li (1976), e o número de genótipos exclusivos ( $\hat{N}_g$ ) foi estimado por contagem direta dos diferentes genótipos. O número de genótipos para conservação *ex situ*

visando reter no banco de germoplasma os tamanhos efetivos de 50 e 100 foram obtidos a partir das fórmulas  $N_{(50)} = 50 \cdot n / \hat{N}_e$  e  $N_{(100)} = 100 \cdot n / \hat{N}_e$ , respectivamente.

A caracterização de estrutura genética foi realizada no programa Fstat (Goudet 1995), em que foram calculadas as estatísticas F, segundo o método de Weir & Cockerham (1984): índice de fixação médio dentro da coleção ( $\hat{f}$ ), índice de fixação para o conjunto das coleções ( $\hat{F}$ ), divergência genética entre todas as coleções ( $\hat{\theta}$ ). A significância dos valores obtidos foi testada a partir do intervalo de confiança a 95% de probabilidade, gerado por *bootstrap*, com 10.000 reamostragens sobre locos.

Para a estimativa das distâncias genéticas entre as coleções e entre os locais de origem, foram calculados os valores de divergência genética entre os pares de amostras ( $\hat{\theta}_p$ ), e gerado um dendrograma no programa PRIMER versão 5 (Clarke & Warwick 2001), utilizando-se o método de agrupamento pelos valores médios entre os grupos (UPGMA). A partir dos valores de  $\hat{\theta}_p$ , foi calculado o fluxo gênico histórico entre as amostras pela fórmula

$\hat{N}_m = \frac{1}{4\alpha} \left[ \frac{1}{\hat{\theta}_p} - 1 \right]$ , sendo  $\alpha = \left[ \frac{a}{a-1} \right]^2$ , em que a é o número de populações, conforme Crow & Aoki (1984).

### 2.3. DISTÂNCIAS E DIFERENCIAÇÃO ENTRE AS POPULAÇÕES ORIGINAIS

As distâncias geográficas entre as populações originais foram estimadas a partir dos pontos médios das suas áreas de ocorrência original e do cálculo das distâncias ao longo do rio Uruguai pelo programa ArcGis 9.2 (ESRI 2008). Os pontos médios das populações de Barra Grande foram obtidos a partir dos locais de resgate das populações, que estavam georeferenciados e o de Machadinho a partir do ponto médio entre as populações originais de

Machadinho geo-referenciadas (cedidos pela Bourscheid Engenharia e Meio Ambiente). O ponto da população de Itá foi estimado a partir do ponto médio aproximativo do local do estreito do Rio Uruguai, devido à falta de registros precisos no resgate destas populações. A partir destes dados foi gerado um dendograma de distâncias geográficas no programa Fitopac 1.6 (Shepherd 2006), utilizando-se o coeficiente de Bray Curtis e o método de agrupamento pelos valores médios dos grupos (UPGMA). Para estimar a correlação entre distância genética e geográfica foi gerado um gráfico de dispersão com os dados de divergência genética

(  $\frac{\hat{\theta}_p}{1 - \hat{\theta}_p}$  ) e distância geográfica (em km) entre os pares de populações.

Para a caracterização morfológica das populações foram utilizados dados de morfologia floral das populações provenientes de Itá Machadinho e Barra Grande (Capítulo 2). A partir dos dados morfométricos foi realizada uma análise de componentes principais (PCA), e um dendrograma de distâncias, estimado por coeficiente de Bray Curtis e método de agrupamento pelos valores médios dos grupos (UPGMA), ambos no programa Fitopac 1.6 (Shepherd 2006).

### **3. RESULTADOS**

#### **3.1. CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA**

Dentre os dez locos analisados sete foram polimórficos para a espécie (Tabela 1), sendo sete locos polimórficos em Itá, três em Machadinho e cinco em Barra Grande. Nas populações de Barra Grande foram encontrados cinco locos polimórficos para Pedras Brancas e Encanados e quatro para Encanadinhos.

Foram encontrados 24 alelos no total das coleções analisadas (Tabela 1). Em Itá foram encontrados 20 alelos (5 exclusivos), em Machadinho 13, e em Barra Grande 19 (3

exclusivos). Nas populações de Barra Grande foram encontrados 17 alelos para Pedras Brancas e Encanados e 16 para Encanadinhos (1 exclusivo).

Itá apresentou a maior diversidade genética; as populações de Barra Grande apresentaram valores intermediários e Machadinho apresentou os menores valores (Tabela 2). Dentre as populações de Barra Grande, Encanados apresentou a maior diversidade; Pedras Brancas valores intermediários; e Encanadinhos os menores valores.

Os índices de fixação foram mais altos (e significativamente diferentes de zero) para Itá, seguido de Machadinho e Barra Grande (Tabela 2). Dentre as populações de Barra Grande, Encanadinhos apresentou os maiores índices de fixação, seguido de Encanados e Pedras Brancas.

O número efetivo populacional no total das coleções foi relativamente alto, correspondendo a 289 indivíduos não parentes e endogâmicos em uma amostra de 373 indivíduos, entretanto, o número de genótipos exclusivos foi de apenas 134, indicando uma alta frequência de genótipos iguais, possivelmente clones (Tabela 2). Os maiores valores de número efetivo e número de genótipos foram verificados em Encanados e Itá, que também corresponderam às maiores amostras.

**Tabela 1.** Frequências alélicas nas nove coleções *ex situ* de *Dyckia distachya* Hassler, provenientes do grupo Itá (Itá), grupo Machadinho (Mach), e grupo Barra Grande – que inclui as populações de Pedras Brancas (PB), Encanados (Enc) e Encanadinhos (Enh). Locais de conservação: HF- Horto Florestal de Itá; MR- jardim residencial em Marcelino Ramos; CCA- Centro de Ciências Agrárias/UFSC; VM- Viveiro de Machadinho da Bourscheid; VCBS- Viveiro de Campo Belo do Sul da Bourscheid; CCB- Centro de Ciências Biológicas/UFSC.

Loco	Alelos	Coleções <i>ex situ</i>								
		Itá - HF	Itá - MR	Itá - CCA	Mach - VM	PB - VCBS	Enc - VCBS	Enc - CCB	Enh - VCBS	Enh - CCB
FES	N	15	15	56	44	46	52	55	6	49
	1	0	0,1	0,054	0	0	0	0,009*	0	0
	2	0,967	0,8	0,875	0	0,033	0,077	0,027	0	0
	3	0,033	0,1	0,063	0	0	0	0	0	0
	4	0	0	0,009*	0,864	0,696	0,606	0,736	1	0,796
GOT	N	12	26	54	50	45	48	57	10	49
	1	0,917	0,962	0,917	1	0,956	0,833	0,895	1	0,959
	2	0,083	0,038	0,083	0	0,044	0,167	0,105	0	0,041
GTDH	N	9	26	61	50	49	52	60	10	49
	1	0	0,192	0,016	0	0	0	0	0	0
	2	0,889	0,673	0,861	1	1	1	1	1	1
IDH	N	15	26	61	50	49	52	60	10	49
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	2	0,9	0,481	0,828	1	1	1	1	1	1
MDH	N	15	26	61	50	49	52	60	10	49
	1	0,1	0,519	0,172	0	0	0	0	0	0
	2	0,9	0,481	0,828	1	1	1	1	1	1
PGI	N	9	26	56	48	49	45	60	10	49
	1	0,389	1	0,661	0,479	0,735	0,578	0,567	0,5	0,633
	2	0,611	0	0,339	0,521	0,194	0,167	0,275	0,2	0,173
	3	0	0	0	0	0,071	0,256	0,158	0,25	0,194
PGM	N	15	26	61	50	49	51	60	10	49
	1	0	0	0	0	0,020	0,029	0	0	0
	2	1	1	1	1	0,980	0,971	1	1	1
	3	0	0	0	0	0	0	0	0,05	0
PRX	N	15	26	55	44	43	51	56	10	49
	1	0,767	0,865	0,918	0,352	0,756	0,608	0,670	0,750	0,449
	2	0,233	0,135	0,082	0,648	0,244	0,392	0,330	0,250	0,551
SKDH	N	15	26	54	50	49	52	60	10	49
	1	0,933	0,692	0,907	1	1	1	1	1	1
	2	0,067	0,308	0,093	0	0	0	0	0	0
SOD	N	15	27	61	50	49	52	60	10	49
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

\*alelos raros – frequência <1%

**Tabela 2.** Diversidade genética das coleções *ex situ* e dos locais de origem de *Dyckia distachya* Hassler. Parâmetros obtidos a partir de 10 locos alozimicos: n- n° amostral,  $\hat{P}_{99\%}$  - percentagem de locos polimórficos,  $\hat{A}$  - número médio de alelos por loco,  $\hat{A}_e$  - n° médio de alelos efetivos,  $\hat{H}_o$  - heterozigiosidade observada,  $\hat{H}_e$  - heterozigiosidade esperada em equilíbrio de Hardy-Weinberg,  $\hat{f}$  - índice de fixação,  $\hat{N}_e$  - n° efetivo,  $\hat{N}_g$  - n° de genótipos.

	n	$\hat{N}_g$	$\hat{N}_g/n$	$\hat{P}_{99\%}$	$\hat{A}$	$\hat{A}_e$	$\hat{H}_o$	$\hat{H}_e$	$\hat{f}$	$\hat{N}_e$	$\hat{N}_e/n$	$\hat{N}_e=50$	$\hat{N}_e=100$
<b>Coleções <i>ex situ</i></b>													
Itá-HF	15	10	66,7	70,0	1,7	1,55	0,167	0,098	0,412*	10,6	0,71	70,8	141,5
Itá-MR	27	19	70,4	60,0	1,8	1,67	0,212	0,182	0,138	27	1	50	100
Itá-CCA	61	37	60,7	70,0	2,0	1,61	0,169	0,146	0,139*	53,6	0,88	56,9	113,8
Mach-VM	50	21	42,0	30,0	1,3	1,28	0,121	0,099	0,177*	42,5	0,85	58,8	117,6
PB-VCBS	49	20	40,8	50,0	1,7	1,45	0,137	0,149	-0,094	49	1	50	100
E-VCBS	52	35	67,3	50,0	1,7	1,57	0,193	0,202	-0,048	52	1	50	100
E-CCB	60	37	61,7	40,0	1,7	1,50	0,163	0,131	0,197*	50,1	0,84	59,9	119,8
Enh-VCBS	10	7	70,0	20,0	1,4	1,36	0,107	0,120	-0,125	10	1	50	100
Enh-CCB	49	24	49,0	40,0	1,5	1,42	0,145	0,127	0,125	49	1	50	100
Média	40,9	14,8	58,7	47,8	1,6	1,49	0,157	0,139	0,102	37,0	0,90	55,3	110,5
<b>Locais de origem</b>													
Itá	103	60	58,3	70,0	2,0	1,95	0,148	0,192	0,227*	83,9	0,81	61,4	122,8
Machadinho	50	21	42	30,0	1,3	1,30	0,100	0,121	0,177*	42,5	0,85	58,8	117,6
Pedras Brancas	49	20	40,8	50,0	1,7	1,67	0,150	0,137	-0,094	49	1	50	100
Encanados	112	62	55,4	50,0	1,8	1,72	0,164	0,178	0,079*	103,8	0,93	53,9	107,9
Encanadinhos	59	27	45,8	40,0	1,6	1,57	0,127	0,143	0,113*	53,0	0,90	55,7	111,3
Média	73,6	38	48,5	48,0	1,7	1,55	0,139	0,156	0,102	46,9	0,64	78,5	156,9
<b>Total</b>	<b>373</b>	<b>134</b>	<b>35,9</b>	<b>80,0</b>	<b>2,4</b>	<b>2,40</b>	<b>0,144</b>	<b>0,202</b>	<b>0,289*</b>	<b>289,4</b>	<b>0,78</b>	<b>64,4</b>	<b>128,9</b>

\* Significativo a 95% de probabilidade, a partir de *bootstrap* com 10.000 reamostragens sobre locos.

### **3.1.1. Coleções provenientes de Itá**

Nas coleções provenientes de Itá, dois alelos ocorreram apenas em MR e CCA, um alelo ocorreu apenas para CCA e HF e um alelo foi exclusivo do CCA (Tabela 1). As maiores diversidades foram encontradas na coleção MR, seguido de CCA. Os índices de fixação foram maiores para a coleção HF e em menor grau em CCA. O número efetivo e número de genótipos foram proporcionalmente maiores para MR (Tabela 2). As coleções apresentaram altíssima divergência entre si (Tabela 3), especialmente MR em relação às demais (Tabela 4 e Figura 2).

Para atingir o número efetivo de 50 e 100 no banco de germoplasma, são necessários respectivamente 62 e 124 indivíduos não parentes e endogâmicos (Tabela 2).

### **3.1.2. Coleção proveniente de Machadinho**

Na coleção de Machadinho, para atingir o número efetivo de 50 e 100, são necessários respectivamente 59 e 118 indivíduos não parentes e endogâmicos (Tabela 2).

### **3.1.3. Coleções provenientes de Barra Grande**

#### *3.1.3.1. Coleção de Pedras Brancas*

Nesta coleção, para atingir o número efetivo de 50 e 100, são necessários respectivamente 50 e 100 indivíduos não parentes e endogâmicos (Tabela 2).

#### *3.1.3.2. Coleções de Encanados*

Nas coleções da população de Encanados, um alelo foi exclusivo do CCB e um exclusivo do VCBS (Tabela 1). A maior diversidade ocorreu na coleção do VCBS e os maiores índices de fixação no CCB. O número efetivo e número de genótipos foram

proporcionalmente maiores para CCB (Tabela 2). As coleções apresentaram uma baixa divergência entre si (Tabela 3, Tabela 4 e Figura 2).

Para atingir o número efetivo de 50 e 100, são necessários respectivamente 54 e 108 indivíduos não parentes e endogâmicos (Tabela 2).

### 3.1.3.3. Coleções de Encanadinhos

Nas coleções de Encanadinhos três alelos foram exclusivos do VCBS (Tabela 1). A maior diversidade e os maiores índices de fixação ocorreram na coleção do CCB. O número efetivo e número de genótipos foram proporcionalmente maiores para VCBS (Tabela 2). As coleções apresentaram uma baixa divergência entre si (Tabela 3, Tabela 4 e Figura 2).

Para atingir o número efetivo de 50 e 100, são necessários respectivamente 56 e 112 indivíduos não parentes e endogâmicos (Tabela 2).

**Tabela 3.** Estrutura genética nas coleções *ex situ* de *Dyckia distachya* Hassler. Índices de fixação de Weir & Cockerham (1984): índice de fixação médio por amostra ( $\hat{f}$ ), índice de fixação total ( $\hat{F}$ ), divergência genética entre as amostras ( $\hat{\theta}$ ). Valores médios e intervalo de confiança (95%) obtido a partir de Bootstrap.

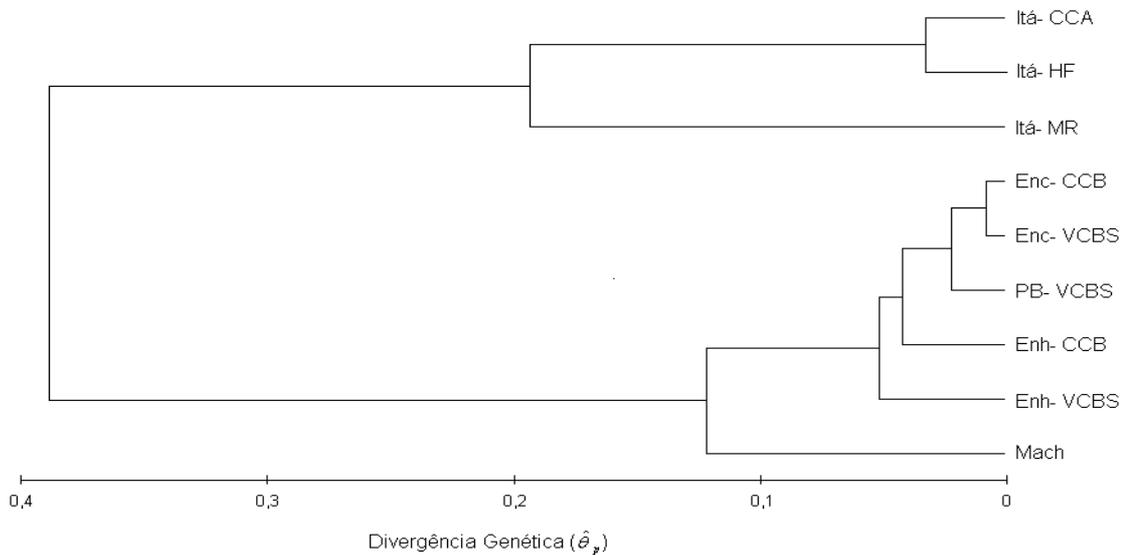
Coleções <i>ex situ</i>	$\hat{f}$	$\hat{\theta}$	$\hat{F}$
Itá	0.163 (0,044-0,310)	0.129 (0,032-0,205)	0.272 (0,136-0,384)
Encanados	0.076 (-0,041-0,302)	0.008 (-0,001-0,020)	0.083 (-0,023-0,303)
Encanadinhos	0.098	0.062	0.154
Total*	0.095 (0,042-0,232)	0.240 (0,103-0,390)	0.312 (0,193-0,449)
Locais de origem**	0.120 (0,063-0,260)	0.235 (0,076-0,403)	0.327 (0,198-0,470)

\* estrutura genética considerando todas as coleções *ex situ*

\*\* estrutura genética entre as coleções agrupadas por local de origem (Itá, Machadinho, Pedras Brancas, Encanados, Encanadinhos).

**Tabela 4.** Estimativas de divergência genética ( $\hat{\theta}_p$ ) e fluxo gênico aparente (Nm) entre as coleções *ex situ* de *Dyckia distachya* Hassler, provenientes de Itá (Itá-HF, Itá-MR, Itá-CCA), Machadinho (Mach) e Barra Grande (PB-VCBS, Enc-VCBS, Enc-CCB, Enh-VCBS, Enh-CCB).

Coleções <i>ex situ</i>	Nm								
	PB-VCB	Enc-VCB	Enh-VCB	Enc-CCB	Enh-CCB	Mach-VM	Itá-HF	Itá-MR	Itá-CCA
PB-VCBS	---	7,349	3,802	20,41	3,515	1,221	0,408	0,380	0,539
Enc-VCBS	0,033	---	3,644	29,87	7,661	1,719	0,587	0,437	0,609
Enh-VCBS	0,062	0,064	---	13,49	3,776	1,390	0,340	0,329	0,419
$\hat{\theta}_p$ Enc-CCB	0,012	0,008	0,018	---	8,371	2,330	0,500	0,369	0,538
Enh-CCB	0,066	0,032	0,062	0,029	---	3,681	0,356	0,309	0,393
Mach-VM	0,170	0,127	0,152	0,097	0,064	---	0,312	0,224	0,315
Itá-HF	0,380	0,299	0,424	0,333	0,413	0,445	---	0,763	7,372
Itá-MR	0,397	0,364	0,432	0,404	0,448	0,527	0,247	---	1,537
Itá-CCA	0,317	0,291	0,374	0,317	0,389	0,442	0,033	0,140	---



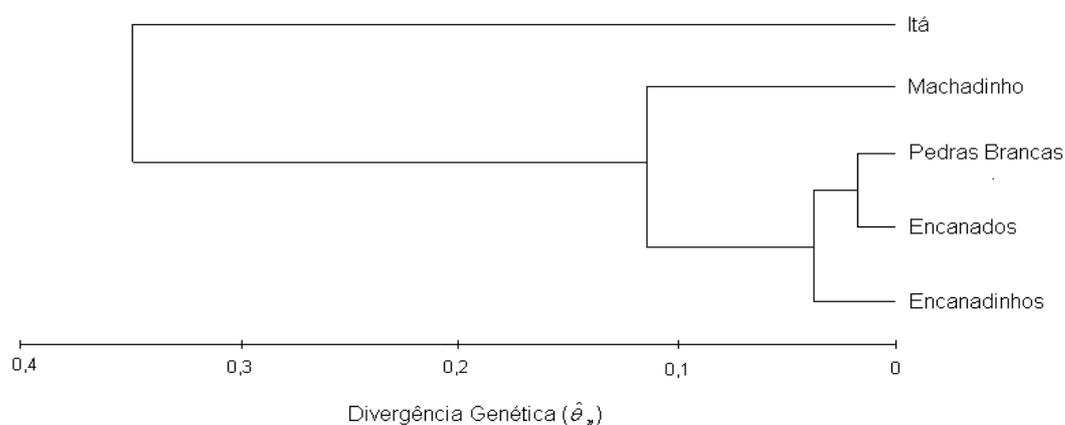
**Figura 2.** Cluster com as divergências genéticas ( $\hat{\theta}_p$ ) entre as coleções *ex situ* de *Dyckia distachya* Hassler a partir do método de agrupamento pelos valores médios (UPGMA).

### 3.2. DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE AS POPULAÇÕES

Dentre as populações, as maiores divergências genéticas foram encontradas entre Itá e todas as demais, correspondendo a um fluxo gênico histórico de menos de um migrante por geração (Tabela 5 e Figura 3). As menores divergências foram encontradas entre os indivíduos das populações de Barra Grande, especialmente entre Pedras Brancas e Encanados, correspondendo a um fluxo gênico de 13,6 migrantes por geração. A divergência entre os indivíduos provenientes de Machadinho e de Barra Grande também foi relativamente baixa, correspondendo a mais de um migrante por geração em todos os casos.

**Tabela 5.** Estimativas de divergência genética ( $\hat{\theta}_p$ ) e fluxo gênico aparente (Nm) entre os locais de origem das populações de *Dyckia distachya* Hassler, atualmente extintas na natureza.

Locais de Origem	Nm				
	PB-BG	Enc-BG	Enh-BG	Mach	Itá
Pedras Brancas-BG	-	13,5622	4,3625	1,2215	0,5756
Encanados-BG	0,0181	-	11,6548	2,1962	0,5773
$\hat{\theta}_p$ Encanadinhos-BG	0,0542	0,021	-	3,3890	0,4305
Machadinho	0,1699	0,1022	0,0687	-	0,3457
Itá	0,3028	0,3022	0,3674	0,4197	-

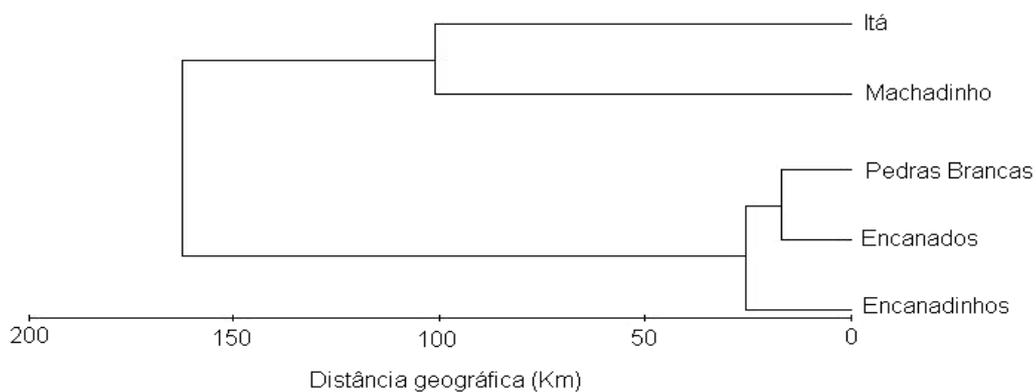


**Figura 3.** Cluster com as divergências genéticas ( $\hat{\theta}_p$ ) entre as populações de *Dyckia distachya* Hassler de diferentes locais de origem, a partir do método de agrupamento pelos valores médios (UPGMA).

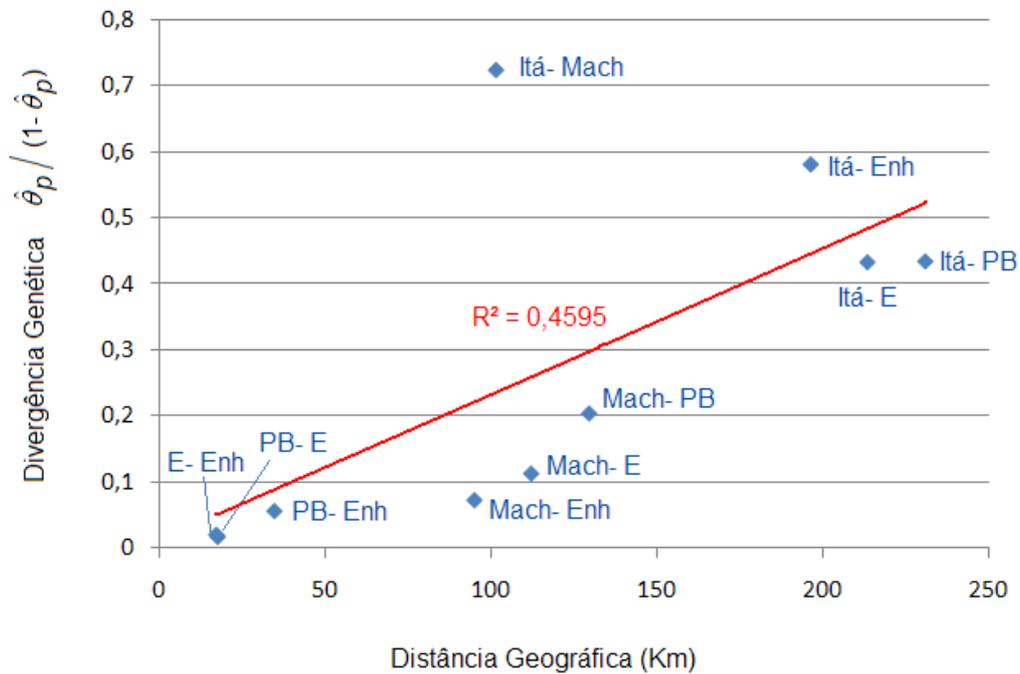
As distâncias geográficas foram proporcionais às distâncias genéticas entre as populações de Barra Grande (Pedras Brancas, Encanados e Encanadinhos), e apresentaram forte correlação entre as demais populações (Tabela 6, Figura 4). No total, a distância geográfica explica 46% da variação genética entre as populações ( $R^2 = 0,4595$  na Figura 5).

**Tabela 6.** Distâncias geográficas entre as populações originais de *Dyckia distachya* Hassler atualmente extintas na natureza.

Populações	Encanadinhos	Encanados	Pedras Brancas	Machadinho	Itá
Encanadinhos	-----				
Encanados	17,5	-----			
Pedras Brancas	34,6	17,1	-----		
Machadinho	129,6	112,1	95,0	-----	
Itá	231,1	213,6	196,5	101,5	-----



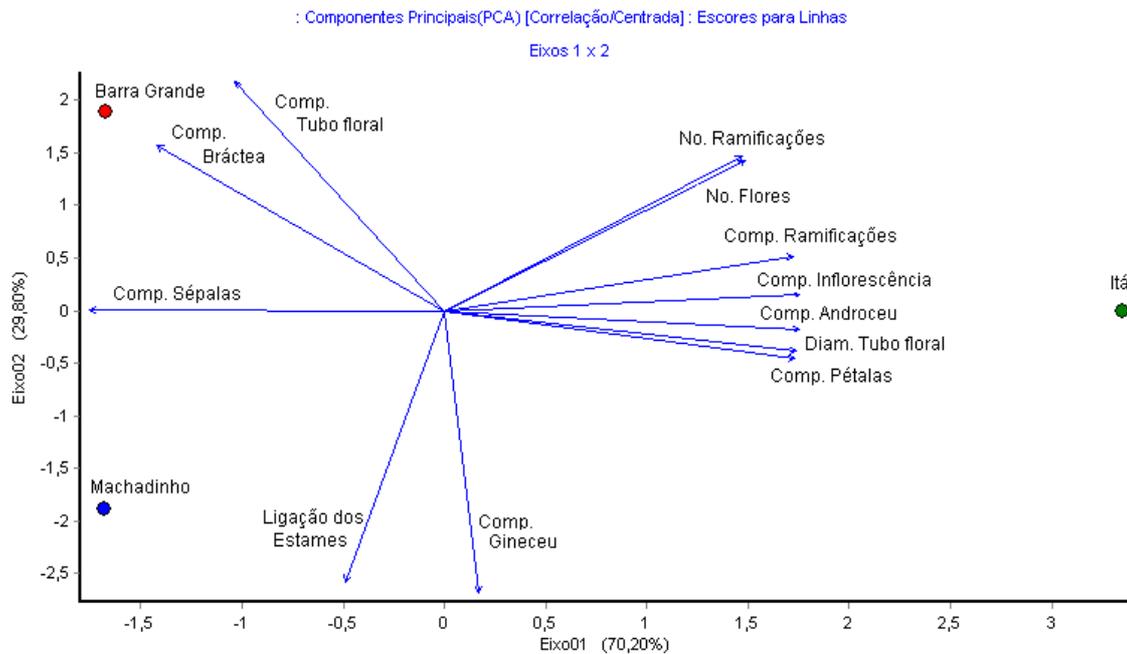
**Figura 4.** Cluster com as distâncias geográficas originais entre as populações de *Dyckia distachya* Hassler, atualmente extintas na natureza, a partir do método de agrupamento pelos valores médios (UPGMA).



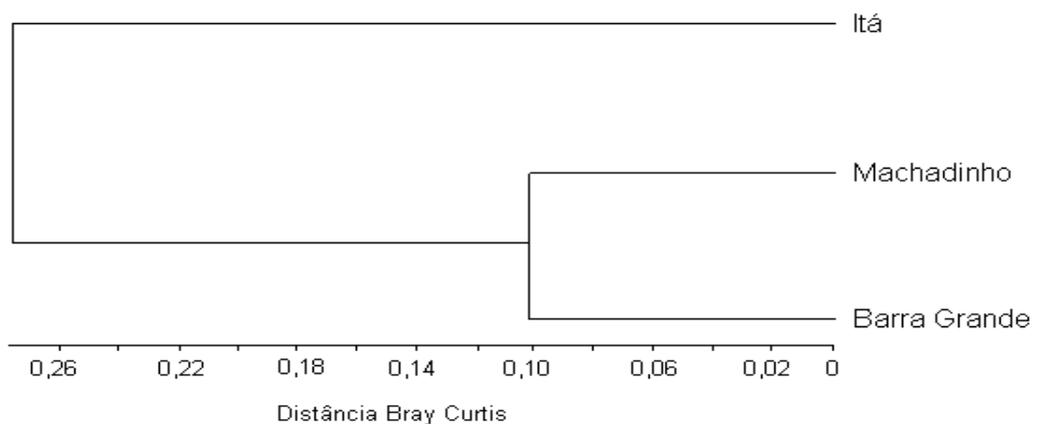
**Figura 5.** Relação entre Divergência Genética e Distância Geográfica entre as populações de *Dyckia distachya* Hassler, atualmente extintas na natureza

A morfologia floral foi mais similar entre as populações de Machadinho e Barra Grande, comparado com Itá (Figura 6 e 7). Em média, os indivíduos provenientes de Itá possuem inflorescências maiores e mais ramificadas e flores com pétalas maiores e maior abertura do tubo floral, enquanto os indivíduos provenientes de Barra Grande possuíam flores de tubos mais longos e maior comprimento de sépala, e os indivíduos provenientes de Machadinho apresentaram características semelhantes aos de Barra Grande, porém com maior comprimento de ligação entre os estames e maior comprimento do gineceu (Figura 6). Quanto ao padrão de coloração, os indivíduos de Itá apresentaram pouca variação, com escapo floral verde e flores amarelo intenso ou escapo e flores levemente alaranjados; os de Machadinho apresentaram escapo e cálice avermelhado e corola alaranjada; e os de Barra Grande apresentaram uma maior variação, com escapo e flores laranjas, escapo e flores vermelhas e em menor frequência escapo e cálice vermelho e corola amarela. As populações de Barra

Grande apresentaram indivíduos com rosetas variando de verde a rubro intenso, enquanto as demais localidades apresentaram todos os indivíduos rosetas verdes.



**Figura 6.** Análise dos componentes principais (PCA) com os dados de morfologia floral das populações de *Dyckia distachya* Hassler provenientes da região de Itá, Machadinho e Barra Grande (ver Capítulo 2).



**Figura 7.** Cluster com os dados de morfologia floral das populações de *Dyckia distachya* Hassler provenientes da região de Itá, Machadinho e Barra Grande, a partir da distância Bray Curtis e método de agrupamento pelos valores médios (UPGMA).

## **4. DISCUSSÃO**

### **4.1. DIVERSIDADE GENÉTICA NAS COLEÇÕES *EX SITU***

#### **4.1.1. Efeitos do processo de resgate das populações**

A divergência genética e as diferenças nos parâmetros de diversidade entre as coleções provenientes de uma mesma população sugerem que houve um forte efeito de deriva genética resultante do procedimento de resgate destas populações na natureza.

As coleções de Itá, provenientes de uma única grande população natural, apresentaram uma grande diferenciação, especialmente a coleção de Marcelino Ramos (MR), indicando que esta coleção provavelmente foi coletada em um local distante das coleções do Horto Florestal (HF) e Centro de Ciências Agrárias (CCA). Estas últimas provavelmente foram coletadas em locais próximos, entretanto a coleção de CCA amostrou um maior número de indivíduos resultando em uma coleção mais rica. A altíssima endogamia da coleção do HF pode ser decorrente da amostragem de poucos indivíduos na natureza e da sobreposição de gerações no viveiro, pois a coleção foi formada a mais de dez anos e inclui, além das matrizes que provavelmente eram aparentadas, indivíduos produzidos por sementes destas matrizes.

Na coleção de Machadinho, a baixa diversidade genética pode ter sido ocasionada, em parte, por deriva decorrente do processo de resgate dos indivíduos do rio. Considerando que esta coleção provém de três populações naturais, é pouco provável que a diversidade natural fosse tão baixa, embora essa possibilidade não seja descartada.

Nas coleções de Barra Grande o efeito de deriva foi bastante evidente apenas na coleção de Encanadinhos de VCBS, devido ao resgate de um pequeno número de touceiras na natureza. Os índices de fixação positivos e significativamente diferentes de zero para as coleções do VCBS provavelmente se devem a amostragem ou a seleção a favor de heterozigotos no viveiro.

As diferenças no procedimento de resgate entre os diferentes locais está relacionada ao contexto histórico de cada Usina Hidrelétrica. A primeira população a ser resgatada foi a de Itá, e na época a preocupação das equipes da Usina Hidrelétrica era apenas de resgatar material e produzir uma grande quantidade de mudas, sem haver um conhecimento da importância de coletar amostras com representatividade genética, resultando em uma coleção bastante pobre geneticamente e que após dez anos já apresenta uma altíssima endogamia (coleção HF). Entretanto a construção desta barragem foi marcada por um forte apelo carismático pela espécie, levando moradores locais à coletarem a bromélia que supostamente seria extinta do rio (coleção MR). Devido ao desconhecimento da distribuição da espécie, a notícia de que a espécie seria extinta também levou pesquisadores a coletarem material do rio com um maior critério para a amostragem, gerando um material mais representativo (coleção CCA).

No caso da barragem de Machadinho, o material foi coletado apenas pela equipe da Usina Hidrelétrica, e provavelmente também não houve preocupação com a amostragem de material com representatividade genética das populações e tão pouco com a separação e identificação de origem do material. Infelizmente, na época não houve envolvimento da população nem de pesquisadores com a coleta da bromélia, e provavelmente a maior parte da diversidade destas populações se perdeu.

Já em Barra Grande, houve um grande envolvimento entre pesquisadores e a equipe de resgate da Usina Hidrelétrica, resultando em uma amostragem bem mais significativa da população natural, além da manutenção das populações separadas e com identificação de origem. Neste caso, houve tanto a preocupação com a coleta de material com representatividade genética, como na manutenção e multiplicação de um grande volume de material em viveiro.

#### **4.1.2. Diversidade genética nas coleções *ex situ***

Pequenos números populacionais vêm sendo relacionados à maiores chances de extinção de espécies na natureza (Ellstrand & Elam 1993). Neste sentido, diversos estudos buscaram estabelecer tamanhos de populações mínimas viáveis, capazes de sobreviver a eventos de estocasticidade ecológica e genética (Nunney & Campbell 1993, Reed 2005, Brook *et al.* 2006). Para a conservação a curto prazo (10 gerações), em espécies arbóreas, Sebbenn (2002) utiliza como referência o número efetivo de 50 e 100 indivíduos, enquanto para conservação à longo prazo (100 gerações) utiliza o número efetivo de 1000.

Considerando que a *D. distachya* possui reprodução clonal, a manutenção dos genótipos e, portanto, a extensão de uma geração, pode ser bastante prolongada, diminuindo os efeitos de deriva genética. Entretanto, de qualquer modo, as reintroduções estão sujeitas aos efeitos estocásticos, de modo que a manutenção de coleções referência são fundamentais para a manutenção da variabilidade genética da espécie.

A diversidade genética encontrada na maior parte das coleções foi relativamente alta, se comparada a algumas populações naturais de bromélias (Tabela 7). Estes valores indicam um bom potencial evolutivo a partir do material das coleções existentes da espécie para a reintrodução.

De acordo com os valores de divergência genética e fluxo gênico entre as coleções de diferentes locais de origem, poderíamos considerar três grandes populações: Itá, Machadinho e Barra Grande. Considerando a baixa divergência genética entre os diferentes locais de Barra Grande (Pedras Brancas, Encanados e Encanadinhos), seria razoável considerar cada um destes locais como uma sub-população de Barra Grande.

**Tabela 7.** Diversidade e estrutura genética em espécies de bromélias obtidos através de marcadores alozímicos ou AFLP.  $\hat{P}(\%)$  = porcentagem de locos polimórficos;  $\hat{A}$  = número de alelos por loco;  $\hat{H}_e / \hat{H}_o$  = diversidade gênica;  $F_{st}$ ,  $G_{st}$  ou  $\theta_p$  = divergência genética.

Espécies	$\hat{P}(\%)$	$\hat{A}$	$\hat{H}_e / \hat{H}_o$	$F_{st} / G_{st} / \theta_p$	Referência
<i>Dyckia distachya</i>	80,0	2,4	0,202	0,289	Este estudo
<i>Dyckia brevifolia</i>	27,0	1,40	0,067	0,376	Rogalski 2007
<i>Dyckia ibiramensis</i>	63,9	2,00	0,203	0,237	Hmeljevsky 2007
<i>Aechmea magdalena</i>	24,1	—	0,084	0,356	Murawski e Hamrick 1990
<i>Aechmea tuitensis</i>	38,2	1,60	0,120	0,196	Izquierdo e Piñero 2000
<i>Pitcairnia geyskesii</i>	63,3	—	0,183	0,322	Sarthou <i>et al.</i> 2001
<i>Puya raimondii</i>	2,3	—	0,011	0,961	Sgorbati <i>et al.</i> 2004
<i>Tillandsia achyrostachys</i>	59,4	1,86	0,210	0,391	González-Astorga <i>et al.</i> 2004
<i>Tillandsia ionantha</i>	16,7	1,37	0,070	0,043	Soltis <i>et al.</i> 1987
<i>Tillandsia recurvata</i>	3,8	1,06	0,010	0,906	Soltis <i>et al.</i> 1987
<i>Vriesia friburgensis</i>	70,0	2,30	0,226	—	Alves <i>et al.</i> 2004
Monocotiledôneas	40,3	1,66	0,144	0,231	Hamrick & Godt 1989
Endêmicas	26,3	1,39	0,063	0,248	Hamrick & Godt 1996
Raras	27,6	1,42	0,113	0,212	Cole 2003

#### 4.1.2.1 Coleções de Itá

Dentre as coleções de Itá, o número efetivo mínimo existente nas coleções foi de 11, 27 e 54 indivíduos para a coleção do Horto Florestal, Marcelino Ramos e Centro de Ciências Agrárias, respectivamente. Entretanto, atualmente o Horto Florestal conta com o maior número de rosetas e gerou diversas outras coleções, como do Parque Fritz Plaumann e a Relocação do Uvá, a partir desta base genética estreita.

A partir dos resultados deste estudo, sugere-se que as coleções geradas a partir do Horto Florestal sejam enriquecidas com o material de Marcelino Ramos e Centro de Ciências Agrárias. Neste caso seria possível obter um número efetivo de 92 que é adequado para a conservação de uma espécie no curto prazo. As futuras reintroduções também deverão contar com material proveniente destas três coleções.

Para a conservação *ex situ* recomenda-se a manutenção de uma coleção referência com no mínimo 124 indivíduos, provenientes das três coleções, buscando atingir o número efetivo de 100.

#### 4.1.2.2. Coleção de Machadinho

A coleção de Machadinho apresentou uma das menores diversidades genéticas ( $\hat{H}_e=0,099$ ) dentre as coleções, embora tenha apresentado um número efetivo relativamente alto ( $\hat{N}_e=42,5$ ). Considerando que esta baixa diversidade genética pode ser em parte resultante das características naturais destas populações, e que a produtividade de sementes foi relativamente alta no viveiro (ver Capítulo 2), sugerimos que esta coleção não seja misturada com as demais provenientes de Itá e Barra Grande. A mistura entre populações deve sempre ser evitada quando isso não for estritamente necessário para o enriquecimento da diversidade genética dentro de populações (Friard *et al* 2001), porque pode quebrar grupos gênicos adaptados à ambientes específicos.

Posteriormente podem ser realizados testes de taxa de cruzamento e avaliações do comportamento reprodutivo em reintroduções que indiquem a necessidade de enriquecimento com material das outras coleções, mas por enquanto não tem-se indícios para isto. No caso de Machadinho, se forem realizados enriquecimentos estes deverão ser feitos a partir do material de Barra Grande, que apresentou maior similaridade, tanto genética como morfológica com os indivíduos de Machadinho.

Para a conservação *ex situ* recomendamos a manutenção de uma coleção referência com no mínimo 118 indivíduos buscando atingir o número efetivo de 100.

#### 4.1.2.3. Coleções de Barra Grande

As Coleções de Barra Grande apresentaram uma diversidade genética relativamente alta e um número efetivo mínimo de 49, 104 e 53 para Pedras Brancas, Encanados e Encanadinhos, respectivamente. Estes valores indicam um bom potencial evolutivo para as reintroduções a partir destas coleções. Especialmente a população de Encanados e Pedras Brancas possui uma diversidade genética alta e pode ser mantida separada nas reintroduções. Visto que as reintroduções de Encanadinhos vêm sendo feitas a partir da coleção do Viveiro de Campo Belo do Sul ( $N_e=10$ ), sugere-se o enriquecimento com material proveniente do Centro de Ciências Biológicas, buscando atingir o  $N_e$  de 50 indivíduos.

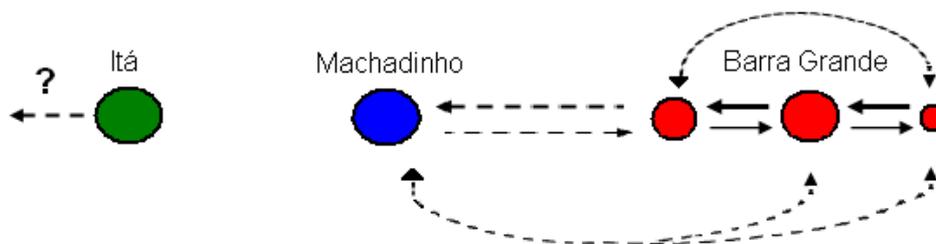
Considerando que a divergência genética foi baixa entre as coleções das diferentes populações de Barra Grande, seria recomendável o delineamento de um modelo de reintrodução com populações mistas e puras, separadas a distâncias relativamente pequenas, de modo a possibilitar fluxo gênico entre elas. Deste modo teria-se uma maior diversidade genética tanto entre as reintroduções (devido à manutenção das diferenças entre algumas populações) quanto dentro delas (devido à mistura em algumas reintroduções), aumentando as chances de que algum destes conjuntos gênicos se adaptem melhor as condições de reintrodução.

Para a conservação *ex situ* recomendamos a manutenção de uma coleção referência de no mínimo 50, 54 e 56 plantas não parentes e endogâmicas para Pedras Brancas, Encanados e Encanadinhos, buscando atingir o número efetivo de 50 por população.

## 4.2. DIFERENCIAÇÃO ENTRE AS POPULAÇÕES NATURAIS

Embora os dados genéticos não provenham de uma amostragem sistemática em populações naturais, é possível presumir alguns padrões relativos à distribuição da diversidade genética e fluxo gênico ao longo da distribuição original das populações.

Os padrões de fluxo gênico histórico entre as populações originais de *D. distachya* sugerem um modelo misto de metapopulações e populações isoladas (Figura 8) (Levin 2000). O modelo de metapopulações se enquadra às populações de Machadinho e Barra Grande, que possuem fluxo gênico variável entre si, mas estão todas indiretamente interligadas. O modelo de populações isoladas compreende populações com fluxo gênico quase nulo, como o observado para Itá, mas é válido apenas dentro da área de abrangência deste estudo, pois é possível que esta população tenha tido fluxo gênico com a população do Turvo, que corresponde à última população natural da espécie em território Brasileiro.



**Figura 8.** Modelo misto de populações isoladas (Itá) e metapopulações (Machadinho e Barra Grande) proposto para *Dyckia distachya*.

No final do Pleistoceno (14.000 a 10.000 A.P.) e início do Holoceno (10.000 a 3.000 A.P.), o clima era mais seco e a vegetação do planalto e região da atual floresta estacional decidual de Santa Catarina era dominada por campos (Behling 1995). É provável que o gênero *Dyckia* como um todo tivesse uma distribuição mais ampla, visto que as espécies deste gênero são características de ambientes xéricos (Benzing 2000). A partir de 3.000 A.P. o clima passou a ser mais úmido, e é provável que a área de abrangência das espécies deste gênero tenham sofrido retração, com a expansão das florestas (Behling 1995), isolando populações e mesmo gerando especiações.

É provável que *D. distachya* tivesse uma distribuição contínua ao longo dos rios Uruguai e Pelotas, e que depois sofreu retração formando centros de dispersão. Talvez, um na região de Itá e outro na região de Barra Grande, e o centro de dispersão de Barra Grande posteriormente pode ter fundado as populações de Machadinho. Esta hipótese justificaria o fato de o complexo de populações de Machadinho possuir menor diversidade, devido ao efeito fundador e posterior deriva genética (Huenneke 1991, Levin 2000). Levin (2000) cita o caso de uma Ponteriaceae, cujas populações fundadas possuíam apenas 8% de locos polimórficos, em comparação a 24% de locos polimórficos das populações fonte.

Outra possibilidade é que a retração tenha gerado os três complexos de populações, que ao longo do tempo se diferenciaram. Entretanto, neste caso, seria esperado que o fluxo gênico histórico entre o complexo Machadinho e Barra Grande e entre Machadinho e Itá fosse semelhante, visto que as distâncias genéticas são similares, o que torna esta hipótese pouco provável. Além disso, a diferença na morfologia floral das plantas de Itá reforça a primeira hipótese. A possibilidade de colonização a partir de uma única população também é pouco provável, considerando a amplitude da área de ocorrência da espécie, e de qualquer forma a única possibilidade de expansão seria em direção a jusante do rio (de Barra Grande em direção à Itá), visto que as sementes são adaptadas à dispersão por hidrocória (Wiesbauer *et al* 2007).

Estimativas de  $Nm$  inferiores a um (1) representam situações de baixo fluxo gênico, em que a deriva genética tem um papel significativo na divergência genética das populações (Murawski & Hamrick 1990). Um baixo fluxo gênico entre populações disjuntas foi observado para a maior parte das bromélias de hábito terrícola/saxícola já estudadas, mesmo entre populações relativamente próximas, como no caso de *Dyckia ibiramensis* e *Aecmea magdalenae* (Tabela 8). Na espécie *Pitcairnia geyskesii* foi encontrada uma correlação positiva entre distância genética e geográfica devido ao efeito de isolamento por distância

(Sarhou *et al* 2001). Além do isolamento geográfico, outros fatores como reprodução clonal (Murawski e Hamrick 1990, Hmeljevsky 2007) ou auto-compatibilidade (Hamirick & Godt 1989, Rogalski 2007) podem favorecer a diferenciação entre as populações, embora não seja o caso de *D. distachya* que é auto-incompatível.

**Tabela 8.** Distâncias geográficas e estrutura genética de populações, em Bromeliaceae terrícolas saxícolas ou reófitas e para monocotiledôneas em geral. D= distância geográfica; N.P.= número de populações analisadas;  $F_{st}$ ,  $G_{st}$  ou  $\theta_p$  = divergência genética;  $N_m$ = número de migrantes.

Espécies	D (km)	N.P.	$F_{st}/G_{st}/\theta_p$	$N_m^*$	Referência
<i>Dyckia ibiramensis</i>	< 1	4	0,237	0,805	Hmeliewsky 2007
<i>Aechmea magdalenae</i>	< 9	9	0,356	0,452	Murawski e Hamrick 1990
<i>Dyckia brevifolia</i>	0-80	8	0,376	0,415	Rogalski 2007
<i>Pitcairnia geyskesii</i>	26-110	5	0,322	0,526	Sarhou <i>et al.</i> 2001
<i>Encholirium subsecundum</i>	50-200	4	0,145	1,474	Cavallari <i>et al.</i> 2006
<i>Dyckia distachya</i>	17-231	5	0,235	0,814	Este estudo
<i>Puya raimondii</i>	<1000	8	0,961	0,010	Sgorbati <i>et al.</i> 2004
Monocotiledôneas (81 spp.)	----	----	0,231	----	Hamrick e Godt 1989

\*Calculados pela fórmula  $\hat{N}m = \frac{1}{4\alpha} \left[ \frac{1}{\theta_p} - 1 \right]$ , conforme Crow & Aoki (1984).

Já Linhart & Grant (1996) sugerem que a seleção natural seja a principal força determinando a diferenciação genética entre populações naturais. Adaptações significativas às condições ecológicas específicas têm sido caracterizadas como “ecótipos locais” (Barrett & Kohn 1991) e estão relacionadas a um menor *fitness* de indivíduos relocados para outros locais dentro da área de distribuição da espécie (Huenneke 1991, Linhart & Grant 1996). Essa diferenciação foi expressa em termos de caracteres morfológicos como tamanho, cor e dormência das sementes, tamanho e coloração de pétalas, tempo de floração, tamanho de folhas, presença de antocianinas etc., no caso de populações de *Potentilla glandulosa* (Clausen & Hiesey 1958, *apud* Linhart & Grant 1996).

A especiação ou diferenciação pode ocorrer por pressão seletiva de polinizadores: populações fundadas podem interagir com uma guilda de polinizadores diferente da população fonte, e uma variação floral pode ser fixada por seleção e não necessariamente por deriva. Mesmo no caso de espécies generalistas, polinizadas por mais de uma guilda de polinizadores, a variação na composição destas guildas pode resultar em diferentes pressões seletivas favorecendo a diferenciação (Bawa 1992).

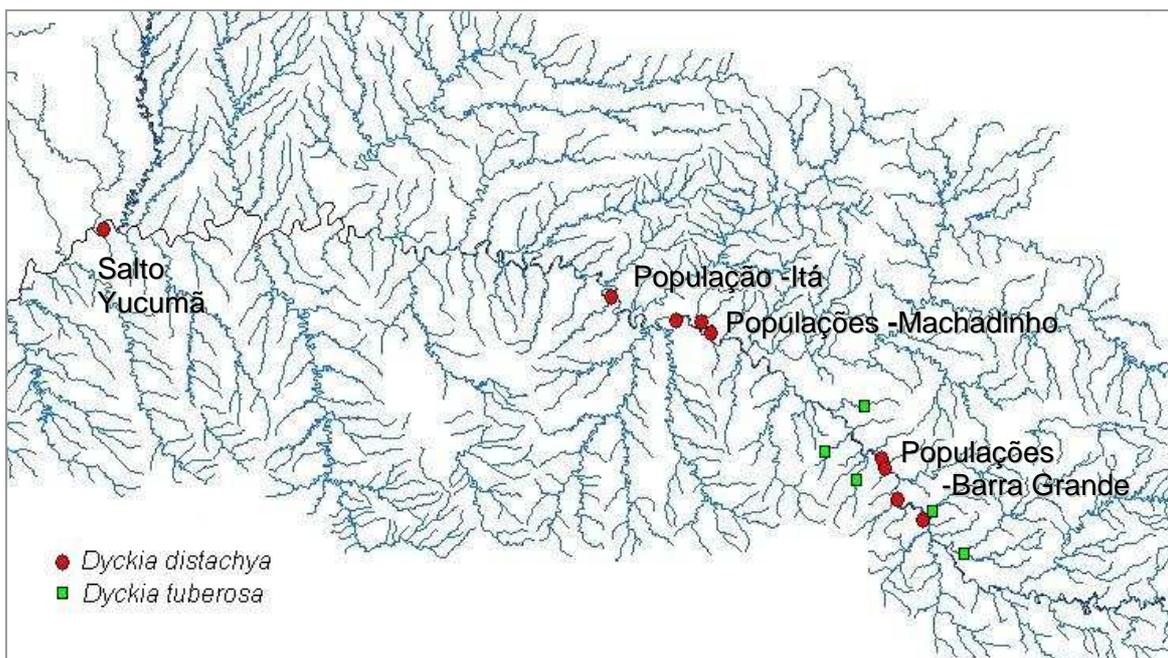
Entretanto, a associação de forças evolutivas como deriva, endogamia, coevolução e seleção pode acelerar o processo de diferenciação e especiação (Bawa 1992). No caso de *D. distachya* a diferenciação morfológica dos caracteres florais, como coloração e formato das flores, poderia ser fruto de deriva genética e posterior pressão seletiva por diferentes guildas de polinizadores. De fato foi verificada a visitação preferencial por borboletas e abelhas nas coleções *ex situ* com indivíduos provenientes de Itá, e visitação preferencial por beija-flores e abelhas nas coleções de Machadinho e Barra Grande (Artigo 2).

Entretanto, embora a deriva e certo nível de adaptação local sejam esperados, a variação morfológica entre as populações pode estar relacionada a hibridização. A hibridização gerando indivíduos férteis pode não ser adaptativa e ser eliminada, pode retornar a morfologia das espécies parentais por retrocruzamento, como no caso de *Leptosiphon bicolor* com *L. jepsonii* (Polemoniaceae) (Goodwillie *et al* 2006), ou pode ser selecionada e gerar uma nova espécie, como em *Penstemon spectabilis* (Scrophulariaceae), formada por cruzamento entre *P. tranthifolius* e *P. grinnelli* (Straw 1956 *apud* Bawa 1992).

O cruzamento entre diferentes espécies pode gerar diferentes graus de introgressão gênica, em que características de outras espécies acabam sendo incorporadas. Este fenômeno merece atenção principalmente em reservas genéticas em que espécies que estavam isoladas na natureza são colocadas em simpatria (Martins 1987).

Hibridização natural foi observada entre bromélias rupícolas *Pitcairnia albiflos* e *P. staminea*, em que os híbridos apresentavam morfologia floral intermediária e atraíam uma série de polinizadores, produzindo uma grande quantidade de sementes viáveis (Wendt *et al* 2001). Já entre *P. flammea* e *P. corcovadensis*, não são encontrados indivíduos com morfologia intermediária na região de simpatria, embora estudos laboratoriais indiquem a formação de híbridos férteis com forma intermediária (Rôças *et al* 2004). Já um estudo com hibridização inter-específica e inter-genérica em Bromeliaceae indicou mecanismos de incompatibilidade entre a maior parte das espécies estudadas, ocorrendo fertilização apenas entre espécies de *Aecmea* e entre *Aecmea* e *Gusmania* (Vervaeke *et al* 2001).

Considerando o contexto geográfico original de *D. distachya*, é possível que tenha havido hibridização com outras espécies do gênero. Ao longo da área de ocorrência das populações de Itá e Machadinho, *D. distachya* é a única espécie com habito reofítico registrada, enquanto as populações de Barra Grande encontram-se no ponto extremo de distribuição da espécie e que entra em contato com a área de distribuição de *D. tuberosa* (Figura 8). A *D. tuberosa* possui folhas mais finas e intensamente rubra e suas inflorescências são vermelho intenso. De fato foram encontrados indivíduos de *D. distachya* com folhas mais finas nas populações de Barra Grande, e foram encontrados exemplares com características intermediárias entre as duas espécies que não se encaixam a nenhuma espécie já descrita de *Dyckia*.



**Figura 9.** Distribuição das populações originais de *Dyckia distachya* Hassler e *Dyckia tuberosa* (Vell.) Beer, ao longo do Rio Uruguai e afluentes.

Devido à amplitude geográfica das populações de Barra Grande e Machadinho, não cabe caracteriza-las como uma zona híbrida, embora o carácter “coloração rubra” ocorra em um gradiente em direção a Itá. De fato as hipóteses são duas: ou as populações de Barra Grande e Machadinho sofreram certo grau de introgressão gênica, mas ainda formam um grupo coeso com Itá, sendo caracterizadas como uma única espécie; ou estas populações já constituem-se como uma nova espécie fruto de um certo grau de hibridização com *D. tuberosa*. Entretanto para testar estas hipóteses seriam necessários testes de cruzamento entre as diferentes populações e espécies, emprego de outros marcadores e número maior de marcadores, ou mesmo caracterização dos seus cariótipos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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

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

BARTON, N. H. & B. CHARLESWORTH. 1984. Genetic revolutions, founder effects and speciation. *Annual Review of Systematics and Ecology* 15:133-164.

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

BAWA, K.S. 1992. Mating systems, genetic differentiation and speciation in tropical rain forest plants. *Biotropica* 24(2b):250-255.

BEHLING, H. 1995. Investigation into the Late Pleistocene and Holocene history of vegetation and climate in Santa Catarina (S Brasil). *Veget Hist. Archeobot* 4: 127-151.

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

BROOK, B. W.; TRAILL, L. W. & BRADSHAW, J. A. 2006. Minimum viable populations sizes and global extinction risk are unrelated. *Ecology Letters* 9: 357-382.

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

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

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

CROW, J.F., AOKI, K. 1984. Group selection for a polygenic behavioral trait: Estimating the degree of population subdivision. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 81: 6073-6077.

ELLSTRAND, N. C. & ELAM, D. R. 2005. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 24: 217-242.

ESRI (Environmental Systems Research Institute). *Geographic information system software. Versão 9.2*. ESRI, Redlands, California. 2008.

FRIAR, E.A.; BOOSE, D.L. La DOUX, T; ROALSON, E.H. & ROBICHAUX, R.H. 2001. Population structure in the endangered Mauna Loa silversword, *Argyroxiphium kauense* (Asteraceae), and its bearing on reintroduction. *Molecular Ecology* 10: 1657-1663.

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

GOODWILLIE, C.; RITLAND, C. & RITLAND, K. 2006. The genetic basis of floral traits associated with mating system evolution in *Leptosiphon* (Polemoniaceae): an analysis of quantitative trait loci. *Evolution*, 60(3): 491-504.

GOUDET, J. 1995. Fstat version 1.2: a computer program to calculate Fstatistics. *Journal of Heredity* 86(6): 485-486.

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

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

HMELJEVSKY, K.V. 2007. Caracterização reprodutiva de *Dyckia ibiramensis* Reitz, uma bromélia endêmica do Vale do Itajaí, SC. Dissertação de Mestrado na Universidade Federal de Santa Catarina. 60p.

- HUENNEKE, L.F. 1991. Ecological implications of genetic variation in plant populations. In: FALK, D.A. & HOLSINGER, K.E. *Genetics and conservation of rare plants*. New York: Oxford University Press. 283p.
- IZQUIERDO, L. Y. e PIÑERO, D. 2000. High genetic diversity in the only known population of *Aechmea tuitensis* (Bromeliaceae). *Australian Journal of Botany* 48: 645–650.
- KEPHART, S. R. 1990. Starch gel electrophoresis of plant isozymes: a comparative analyses of techniques. *American Journal of Botany* 77(5): 693-712.
- LEVIN, D.A. 2000. *The origin expansion, and demise of plant species*. New York: Oxford University Press. 230p.
- LI, C.C. 1976. *Population Genetics*. Chicago: University Chicago Press. 366p.
- LINHART, Y.B. & GRANT, M.C. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27: 237-277.
- MARTINS, P. S. 1987. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação *in situ*. *IPEF* 35: 71-78.
- MURAWSKI, D.A.; & HAMRICK, J.L. 1990. Local genetic and clonal structure in the tropical terrestrial bromeliad, *Aechmea magdalenae*. *American Journal of Botany* 77(9): 1201-1208.
- NEI, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 83: 583-590.
- NUNNEY, L. & CAMPBELL K. A. 1993. Assessing minimum viable population size: demography meets population genetics. *Reviews, Tree* 8(&): 234-239.
- POMPELLI, M. F. e GUERRA, M. P. 2004. *Ex situ* conservation of *Dyckia distachya*: na endangered bromeliad from South Brazil. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 4: 273-279.
- REED, D. H. 2005. Relationship between population size and fitness. *Conservation Biology* 19(2): 563-568.

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

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

RÔÇAS, G.; KLEIN; D.E. & MATTOS, E.A. 2004. Artificial hybridization between *Pitcairnia flammea* and *Pitcairnia corcovadensis* (Bromeliaceae): analysis of the performance of parents and hybrids. *Plant Species Biology* 19: 47-53.

ROGALSKI, J. M. 2007. Biologia da Conservação da reófito *Dyckia brevifolia* Baker (Bromeliaceae), Rio Itajaí-Açu, SC. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Santa Catarina.

SARTHOU, C.; SAMADI, S. e BOISSELIER-DUBAYLE, M. C. 2001. Genetic structure of the saxicole *Pitcairnia geyskesii* (Bromeliaceae) on inselbregs in French Guiana. *American Journal of Botany* 88: 861-868.

SEBBENN, A. M. 2002. Número de árvores matrizes e conceitos genéticos na coleta de sementes para reflorestamentos com espécies nativas. *Revista do Instituto Florestal* 14(2): 115-132.

SGORBATI, S.; LABRA, M.; GRUGNI, E.; BARCACCIA, G.; GALASSO, G.; BONI, U.; MUCCIARELLI, M.; CITTERIO, S.; IRAMÁTEGUI, A. B.; GONZALES, L. V. e SCANNARINI, S. 2004. A survey of genetic diversity and reproductive biology of *Puya raimondii* (Bromeliaceae), the endangered queen of the Andes. *Plant Biology* 6: 1-9.

SHEPHERD, G. J. 2006. Fitopac 1.6. Departamento de Botânica, UNICAMP.  
SOLTIS, D.E.; GILMARTIN, A.J.; RIESEBERG, L.; GARDNER, S. 1987. Genetic variation in the epiphytes *Tillandsia ionantha* and *T. recurvata* (Bromeliaceae). *American Journal of Botany* 74: 531-537.

VENCOVSKY, R. 1997. Biometrical approaches for molecular markers: estimation of effective population size. In: *International Workshop on Agricultural Biotechnology. Proceedings*. ESALQ-USP, Piracicaba, Cook College - New Jersey Agricultural Experiment Station, The State University of New Jersey, Rutgers. 2p.

VERVAEKE, I.; PARTON, E.; MAENE, L.; DEROOSE, R. & DE PROFT, M.P. 2001. Prefertilization barriers between different Bromeliaceae. *Euphytica* 118: 91-97.

WEIR, B. S. & COCKERHAM, C. C. 1984. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution* 38 (6): 1358-1370.

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). *American Journal of Botany* 88(10): 1760-1767.

WIESBAUER, M. B.; SCARIOT, E. C. SASAKI, L. L. & REIS, A. 2007. Influência da luz e inundação na germinação de *Dyckia distachya* Hassler, uma bromélia em vias de extinção. Nota Científica. *Revista Brasileira de Biociências* v.5, supl. 1: 717-719.