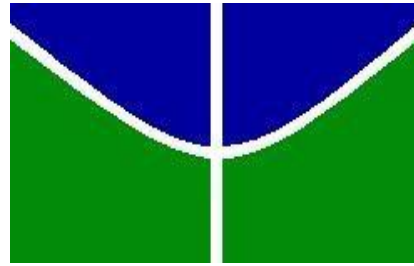


Universidade de Brasília

Instituto de Biologia

Departamento de Botânica

Programa de Pós-Graduação em Botânica



***Campylopus* Brid. (Bryophyta) e *Cyathea* Sm. (Monilophyta) da Ilha da Trindade: um estudo filogenético e biogeográfico**

ALLAN LAID ALKIMIM FARIA

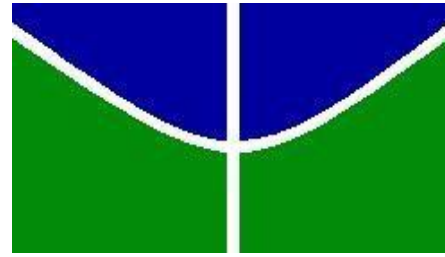
Brasília - DF
Julho, 2016

Universidade de Brasília

Instituto de Biologia

Departamento de Botânica

Programa de Pós-Graduação em Botânica



***Campylopus* Brid. (Bryophyta) e *Cyathea* Sm.
(Monilophyta) da Ilha da Trindade: um estudo filogenético
e biogeográfico**

ALLAN LAID ALKIMIM FARIA

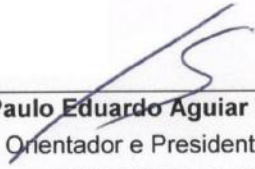
Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade de Brasília, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de DOUTOR EM BOTÂNICA.

ORIENTADOR: DR. PAULO EDUARDO A. S. CÂMARA

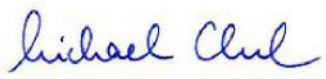
Brasília - DF
Julho, 2016

***Campylopus* Brid. (Bryophyta) e *Cyathea* Sm. (Monilophyta) da Ilha da Trindade: um estudo filogenético e biogeográfico.**

Tese apresentada e aprovada em 06 de julho de 2016.

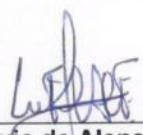


Dr. Paulo Eduardo Aguiar Saraiva Câmara
Orientador e Presidente da Banca
Universidade de Brasília



Dr. Michael Stöch
Membro Titular
Naturalis Biodiversity Center - Netherlands

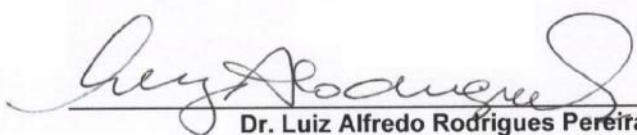
Dr. Alexandre Salino
Membro titular
Universidade Federal de Minas Gerais



Dr. Lúcio Flávio de Alencar Figueiredo
Membro titular
Universidade de Brasília



Dr. Marcelo Fragomeni Simon
Membro titular
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen)



Dr. Luiz Alfredo Rodrigues Pereira
Suplente
Universidade de Brasília

Brasília – DF
Julho, 2016.

“Algo só é impossível até que alguém duvide e resolva provar ao contrário”

Albert Einstein

“É necessário sair da ilha para ver a ilha. Não nos vemos se não sairmos de nós”

José Saramago

AGRADECIMENTOS

Ao programa de Pós-Graduação em Botânica da UnB, que possibilitou o desenvolvimento da pesquisa. Ao grande amigo/orientador Paulo Câmara que me mostrou o universo mágico das briófitas.

Aos doutores Denilson Peralta (IBT-SP); Denise Costa (JBRJ); Micheline Carvalho Silva (UnB/UFVJM); Vanessa Rivera (UnB) e a professora Maria das Graças (UnB) pela ajuda generosa.

A todos os amigos pesquisadores do Núcleo de Briólogos do Centro-Oeste (NuBrioCO): Abel Eustáquio, Renato Gama, Bárbara, Ana Gabriela, Diego Knop, Júlia Mundim, Tamara Dantas, Osvanda Moura, Carla Pereira, Amanda, Marcelo Lasneaux e Daiane Valente.

A meus pais e sobrinhos (Monike e Rodrigo) que sempre me apoiaram de todas as maneiras e que sempre acreditaram em mim.

Aos amigos Daniel Villarroel, André (Babalaô), Felipe (Formiga) e Renata Correa pelas conversas extras acadêmicas mesmo que científicas.

Ao professor Michael Stech pela orientação no Naturalis Biodiversity Center juntamente com a Universidade de Leiden. Agradeço a todos os curadores dos herbários BHCB, CBS, CEN, K, L, PC, R, RB, SP, SPF e UB.

Ao CNPq pelo fornecimento de fundos, a Marinha do Brasil por todo o apoio logístico. A SERCIM, em especial aos comandantes Abrantes e Camilo, 1º Distrito Naval, todos os marinheiros oficiais dos navios: Sirius NHI, NDCC Almirante Saboia, RbAM Almirante Gilhobel e NDD Rio de Janeiro. Agradeço também a CAPES pelas bolsas fornecidas no Brasil e exterior.

Muito obrigado!

SUMÁRIO

RESUMO	12
ABSTRACT	13
EVOLUÇÃO DE PLANTAS EM AMBIENTES INSULARES.....	14
A Formação das Ilhas	14
A Biodiversidade Insular	15
Dispersão em Ilhas.....	16
Heterogeneidade de Hábitats	17
Biologia Reprodutiva	18
Radiação adaptativa e hibridização em ilhas.....	19
Ilha da Trindade.....	21
Vegetação e endemismo da ilha	23
Briófitas da Ilha da Trindade	23
Pteridófitas da Ilha da Trindade	25
Objetivos	26
Objetivos específicos.....	27
Referências	28
CAPÍTULO 1. Identidade e origem de <i>Campylopus</i> (Bryophyta, Briopsida) da Ilha da Trindade - Brasil.....	37
Introdução	38
Material e métodos	38
Amostragem	38
Extração de DNA, Amplificação e sequenciamento.....	38
Reconstrução filogenética.....	38
Análises morfológicas.....	38
Resultados	38
Discussão.....	39
Referências	39
CAPÍTULO 2. A <i>Cyathea</i> da Ilha da Trindade é um caso de endemismo? Uma abordagem filogenética e morfológica.....	58
Introdução	51

Material e métodos	54
Amostragem	54
Extração de DNA, Amplificação e sequenciamento.....	54
Reconstrução filogenética	56
Análises morfológicas.....	56
Resultados	57
Discussão	70
Referências	71
Conclusão	81

ÍNDICE DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1: Informação dos vouchers e números de acesso ao GenBank para as sequências recém geradas de *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid e *C. occultus* Mitt. 41

Capítulo 2

Tabela 1: Primers e temperaturas de anelamento utilizados no estudo 55

Tabela 2: Táxons utilizados no estudo, localidade de coleta, coletor e número de coleta e herbário onde está depositado 55

ÍNDICE DE FIGURAS

Evolução das plantas em Ambientes insulares

Figura 1: Localização da Iha da Trindade (distância do continente).....	21
Figura 2: Ilha da Trindade	22
Figura 3: <i>Campylopus fragilis</i> subsp. <i>fragiliformis</i> . A. Planta hidratada. B. Planta desidratada....	24
Figura 4: <i>Campylopus pilifer</i> . A Planta hidratada. B. Planta desidratada.....	24
Figura 5: Floresta de Samambaias. A Populações de Samambaia. B Indivíduos de <i>Cyathea</i>	26

Capítulo 1

Figura 1: Filograma obtido a partir da análise Bayesiana do conjunto de dados combinado de nrITS, regiões plastídias (*atpB-rbcL*, *atpI-atpH*, *trnL-trnF*) codificado com *simplex indel code*. Números nos ramos são probabilidades posteriores de Bayesiana ≥ 0.95 sobre os valores de suporte com bootstrap de $\geq 75\%$ a partir da análise de máxima verossimilhança no mesmo conjunto de dados. O símbolo “ “ indica as espécimes que foram originalmente identificados como pertencentes a uma espécie diferente

42

Capítulo 2

Figura 1: Filograma obtido a partir da análise Bayesiana do conjunto de dados combinados da regiões plastidiais (*Trng-trnR*, *trnL-trnF* e *rbcL-accD*) codificado com *simplex indel code*. Números nos ramos são de Máxima Parcimônia (MP), Máxima Verossimilhança (MV) e Bayesiana (BI). Apenas os valores de suporte com bootstrap de $\geq 65\%$ a partir da análise de máxima parcimônia; $\geq 75\%$ para máxima verossimilhança e ≥ 0.95 para Bayesiana são mostrados no mesmo conjunto de dados.....

61

Figura 2: Análise Bayesiana mostrando as diferenças morfológicas entre os dois clados. A (espécies da Iha e litoral) e B (espécies do interior do continente). Caracteres: Espinhos; Tricomas na parte adaxial das pínulas; Escamas na parte abaxial das pínulas e Tricomas no caule.....

63

Figura 3: Esporos de *Cyathea delgadii* Sternb. em microscopia eletrônica de varredura. **A e B** (Carvalho-Silva, 1788 - Ilha da Trindade); **C e D** (Alkimim-Faria, 1062 - Floresta da Tijuca, RJ)...

64

Figura 4: Esporos de *Cyathea delgadii* Sternb. em microscopia eletrônica de varredura. **E** (Gaspar & Kassner-Filho, 3106 – SC); **F** (Alkimim-Faria, 1076a – RS); **G** (Alkimim-Faria, 1058 – MG); **H** (Carvalho-Silva, 1146 – GO); **I** (Pereira, 202 – DF); **J** (Alkimim-Faria, 1000 – ES).

65

Figura 5: F Indúsios de *Cyathea delgadii* Sternb. em microscopia eletrônica de varredura. **A e B** (Carvalho-Silva, 1788 - Ilha da Trindade); **C** (Pereira, 202 - DF); **D** (Carvalho-Silva, 1146 - GO)...

66

Figura 6: Indúsios de *Cyathea delgadii* Sternb. em microscopia eletrônica de varredura. **E** (Alkimim-Faria, 1058 - MG; **F** (Alkimim-Faria, 1076a - RS); **G** (Alkmim-Faria, 1000 - ES); **H** (Alkimim-Faria, 1062 – RJ).....67

Figura 7: Reconstrução de caracteres evolutivos. Os círculos brancos representam as espécies da Ilha da Trindade e litoral do Brasil com raque desprovida de tricomas, e estipes com espinhos menores. Os círculos pretos representam as espécies do interior do continente possuidoras de tricomas nas raques e com espinhos maiores e agudos.....69

LISTA DE HERBÁRIOS

BHCB - Universidade Federal de Minas Gerais

BM - British Museum

CEN - Embrapa Cenargen

CBS - Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht - Holanda

HUCS - Universidade de Caxias do Sul

K - Kew Herbarium, Londres, - Inglaterra

L - Universidade de Leiden, Holanda - NATURALIS

MNHN - Museo Nacional de Historia Natural, Havana - Cuba

MO - Missouri Botanical Garden, Saint Louis - Estados Unidos

PC - Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris - França

R - Museu Nacional do Rio de Janeiro

RB - Instituto de Pesquisa do Jardim Botânico do Rio de Janeiro

S - Swedish Museum of Natural History, Stockholm - Suécia

SP - Instituto de Botânica de São Paulo

SPF - Universidade de São Paulo

U - Naturalis – Leiden, Holanda

UB - Universidade de Brasília

RESUMO

As ilhas oceânicas são formadas por vulcanismo e não estão conectadas ao continente. São importantes pois tratam-se de verdadeiros laboratórios e testemunhos bioevolutivos, bem como para estudos em ecologia e evolução, pontes de distribuição de muitas espécies e, em geral, com grande incidência de endemismos. Trindade é uma ilha oceânica brasileira localizada a cerca de 1.100 Km da cidade de Vitória (ES), erguida há aproximadamente 3 milhões de anos por vulcanismo na zona abissal do Atlântico. A flora da ilha é composta por 113 espécies vasculares e 32 espécies de briófitas. As populações de *Campylopus* (Bryophyta) e *Cyathea* (Monilophyta) da Ilha da Trindade apresentaram diferenças morfológicas quando comparados com seus pares continentais. Essa última era tida como espécie distinta das do continente e endêmica da Ilha, no entanto foi sinonimizada com *C. delgadii* Sternb. O objetivo desse trabalho é estudar as populações de *Campylopus* e *Cyathea* da Ilha da Trindade a fim de melhor entender a utilidade taxonômica das variações morfológicas encontradas entre as populações insulares e seus pares continentais. Para tanto a tese está subdividida em dois capítulos. O primeiro aborda a filogenia molecular de *Campylopus* Brid. da Ilha da Trindade baseada em Inferências filogenéticas dos espaçadores nucleares ribossômicos internos e três marcadores plastídiais, que mostram que as populações de *Campylopus pilifer* da ilha estão agrupadas com *C. introflexus* e as *C. fragilliformis* está agrupada com a espécies de *C. occultus*. A re-investigação de caracteres morfológicos confirma que as populações da Ilha da Trindade pertencem a estas espécies. Com base em relações filogenéticas, tanto *C. introflexus* e *C. occultus* provavelmente chegaram a Ilha da Trindade oriundos da América do Sul. O segundo capítulo refere-se à *Cyathea* Sm. A espécie insular possui pequenas diferenças morfológicas no indúcio e indumento, no entanto, essas distinções morfológicas que ocorrem nos táxons têm sido consideradas insignificantes no nível de endemismo. As inferências filogenéticas de três marcadores plastídiais junto com as análises morfométricas, observações dos esporos em microscopia eletrônica de varredura e características morfológicas mostram que são consistentes com o reconhecimento de uma única espécie. Porém, os espécimes do litoral e as do interior do Brasil apresentaram variações quanto às diferenças morfológicas e genéticas.

ABSTRACT

Oceanic islands are formed by volcanism and are not connected to the mainland. They are important because they represent real laboratories and bioevolutive testimonies and also for studies in ecology and evolution, distribution of bridges and present many species with high rates of endemism. Trindade is a Brazilian oceanic island located about 1,100 km from the city of Vitória (ES), originated around 3 million years ago in the abyssal zone of the Atlantic. The flora of the island consists of 113 vascular species and 32 species of bryophytes. Populations of *Campylopus* (Bryophyta) and *Cyathea* (Monilophyta) from Trindade Island presented morphological differences when compared with their continental pairs. The latter was regarded as a distinct species from the continent and endemic to the island, however, it was synonymized with *C. delgadii* Sternb. The aim of this work was to study populations of *Campylopus* and *Cyathea* from Trindade Island in order to better understand the taxonomic utility of morphological variations found between island populations and their continental pairs and identify which populations of the continent are providing diaspores to Trindade. Therefore, the thesis is divided into two chapters. The first deals with the molecular phylogeny of *Campylopus* Brid. from Trindade Island based on phylogenetic inferences of internal ribosomal nuclear and three plastid markers, which show that the populations of *Campylopus pilifer* from island are grouped with *C. introflexus*, and *C. fragilliformis* is grouped with the species *C. occultus*. A re-investigation of morphological characters confirms that the populations from Trindade Island belong to these species. Based on phylogenetic relationships, both *C. introflexus* and *C. occultus* probably reached Trindade from continental South America. The second chapter refers to *Cyathea* Sm. The island specimen has small morphological differences in indusium and indument, however, these morphological differences that occur in taxa have been considered insignificant in terms of endemism. Phylogenetic inference from three plastid markers along with the morphometric analysis, observations of spores in scanning electron microscopy and morphological characteristics show that these features are consistent with the recognition of a single species. However, specimen from the coast and the interior of Brazil showed variations in the morphological differences and genetic.

EVOLUÇÃO DE PLANTAS EM AMBIENTES INSULARES

A Formação das Ilhas

O Oceano Atlântico surgiu com a separação das placas litosféricas da América do Sul e da África (Wilson 1965, Almeida 2006, Whittaker & Fernández-Palacios 2007). Com a desfragmentação da Pangeia formaram-se as ilhas continentais, que podem estar conectadas à plataforma continental. Geralmente ficam próximas à massa de terra que a despreendeu, sendo uma extensão do território continental. Durante a deriva continental, a placa que passa sobre um hotspot ou uma pluma mantélica atua como um condutor de magma formador de vulcões, originando as ilhas oceânicas (Hess 1946; Cronk 1997).

As ilhas oceânicas além de serem formadas por vulcanismo, não estão e nunca estiveram conectadas ao continente, tendo uma base distinta, podendo ser a ponta de uma montanha submarina, no qual se subdividem em ilhas vulcânicas formadas por erupções, e as ilhas coralígenas, formadas pelo acúmulo de corais (Whittaker & Fernández-Palacios 2007 e Cox & Moore 2011). Ao formar uma nova ilha, podem submergir após milhões de anos, desaparecer ou afastarem-se através do tempo (Stuessy et al. 1998 e Stuessy 2007).

Os estudos de Wallace (1855) e Darwin (1859) com ilhas foram importantes no desenvolvimento de suas ideias sobre a evolução e reconhecimento desses ambientes como verdadeiros laboratórios. Tratam-se de testemunhos bioevolutivos, importantes para estudos em ecologia e evolução, bem como pontes de distribuição de muitas espécies. Representam importantes bancos genéticos, e têm um papel central no desenvolvimento da biogeografia com trabalhos que estimularam importantes ideias sobre a sistemática, genética e ecologia de organismos em ilhas (MacArthur & Wilson 1967). São ambientes isolados, de ecossistemas em grande parte independentes, desproporcional às diminutas frações de superfície terrestre, e representam reações mais complexas do que os ambientes continentais. Quando pequenas, geralmente apresentam baixa biodiversidade, mas com grande incidência de endemismos (Lomolino et al. 2010; Hansen & Traveset 2012; Mohr et al. 2009). Os ambientes insulares que são menos isolados e mais perto do continente às vezes podem oferecer sistemas modelos mais simples e de fácil entendimento para estudos intraespecíficos sobre os processos microevolutivos associados com a colonização da ilha (Barrett et al. 1996).

A Biodiversidade Insular

A biota de ilhas oceânicas geralmente é distinta e de uma importância considerável. Assim como outros habitats insulares (topos de montanha, fragmentos de vegetações, lagos e cavernas), oferecem grandes oportunidades para a compreensão dos padrões e processos evolutivos. Em geral, a biodiversidade desse tipo de ilha é bastante particular e por mais que estes ambientes representem somente 5% da cobertura terrestre do planeta, cerca de um terço de todas as espécies de mamíferos, aves e anfíbios ameaçadas estão nestes locais (Fonseca et al. 2006). O percentual de espécies endêmicas em ilhas oceânicas é alto, e a vulnerabilidade destas espécies é maior em relação às dos continentes devido ao espaço geográfico restrito e único, com interações ambientais biótica e abiótica específicas (Walter 2004; Fonseca et al. 2006), e como consequência da menor variabilidade genética (Frankham 1997).

Muitos fatores influenciam o desenvolvimento da biodiversidade e, conseqüentemente, a variação genética em espécies insulares, sejam endêmicas ou plantas introduzidas (Cronk 1997). Os principais fatores que atuam no desenvolvimento são as dimensões físicas (idade, tamanho e isolamento geográfico) características biológicas das espécies (incluindo taxas de mutação), modos de especiação, hibridização e grau de perturbação humana. (Stuessy et al. 2014).

As ilhas continentais normalmente possuem a biota do próprio continente ou modificada devido à evolução independente, e à extinção na nova ilha. Algumas mudanças evolutivas resultam de diferentes condições de vida na ilha, comparadas às condições no continente. Além disso, se o fragmento deslocado que distanciou do continente adjacente, sua biota gradualmente torna-se dominada pelos resultados da dispersão transoceânica (Barrett et al. 1996; Winkworth et al. 2002; Vences et al. 2003; Sanmartín & Ronquist 2004; Sanmartín et al. 2007; Patiño et al. 2013). De forma similar àquela dos fragmentos continentais, a biota dessas ilhas torna diferenciada por meio da evolução, como também apresenta mudanças ecológicas progressivas à medida que o ecossistema amadurece e proporciona novas oportunidades (Cox & Moore 2011).

Dispersão em Ilhas

Os oceanos são barreiras eficazes à distribuição dos organismos, e a ordenação das espécies em arquipélagos depende de imigração, extinção e especiação (Fernandes-Palacios et al. 2011). Poucas espécies vegetais conseguem sobreviver por muito tempo em água salgada, assim não conseguem atingir uma ilha, principalmente se não possuírem adaptações especiais para transporte aéreo ou marítimo. Dessa forma, a dispersão é a principal estratégia evolutiva adotada pelos organismos em ilhas. É a chave do processo na diversidade biológica em ilhas para colonizarem novas áreas, e as disjunções intercontinentais são comuns entre as plantas, podendo ser moldados por vicariância (Raven & Axelrod 1974), dispersão (Barrett et al. 1996; Emerson 2002; Lomolino et al. 2010; Cowie & Holland 2006; Nathan 2006) ou uma combinação de ambos os processos (Cook & Crisp 2005).

Sendo assim, o vento é um importante vetor para a dispersão de longa distância (LDD) nos hemisférios norte e sul (Muñoz et al. 2004; Wilkinson et al. 2012; Alsos et al. 2015; Vargas et al. 2015.). A grande maioria das plantas apresenta alguma adaptação para garantir que a geração seguinte seja transportada para além da vizinhança próxima de seus parentes. No entanto, são necessários pequenos ajustes em alguns desses dispositivos de dispersão para tornar possível a transposição até as faixas oceânicas. Os esporos da maioria das samambaias e briófitas são pequenos e podem ser transportados por distâncias consideráveis pelo vento, portanto, tendem a apresentar padrões muito amplos de dispersão e outras plantas possuem sementes que são especialmente adaptadas para a dispersão pelo vento (Cox & Moore 2011)

A dispersão dos esporos ocorre como um esbanjamento aleatório e compensado pela quantidade de esporos produzidos por unidade de área (Nagarajan & Singh 1990). Assim, a colonização e o estabelecimento bem-sucedido em ilhas são influenciados por suas histórias de vida e condição reprodutiva da maioria das espécies de plantas, combinada com autocompatibilidade, tem sido uma vantagem em permitir a LDD (Baker 1995; Vargas et al. 2015). Segundo Fayard et al. (2009), a LDD é atualmente aceita como fator chave nos processos de colonização, os quais influenciam tanto a dinâmica de expansão populacional quanto a estrutura espacial da diversidade genética vegetal. Isto implica que o descompasso entre a riqueza de espécies por unidade de área em continentes e nas ilhas aumenta com o grau de isolamento da ilha, e as espécies são filtradas progressivamente em função da capacidade de dispersão (Whittaker & Fernandez-

Palacios 2007; Fayard et al. 2009).

Estudos de dispersão tem sido provocados principalmente pela popularização da sistemática molecular e a possibilidade de estimar tempos de divergência usando relógios moleculares. Muitas plantas e linhagens dos animais, cujas distribuições antes eram explicadas por vicariância, parecem muito jovens para terem sido afetados pelos acontecimentos geológicos postuladas (Szovényi et al. 2012; Baum et al. 1998; Waters et al. 2000; Cooper et al. 2001; Arensburger et al. 2004; Renner 2004).

No geral, as briófitas exibem capacidades globalmente maiores de dispersão do que plantas com sementes, e as diferenças de capacidade de dispersão entre grupos taxonômicos oferecem uma interpretação à frente das diferenças em seus padrões de distribuição, sendo que é estimado que cerca de 1% de chuvas regionais de esporos tem origem transcontinental (Medina et al. 2011; Sundberg 2013). O tamanho de esporos de briófitas é bastante variado, embora em geral, sejam pequenos, normalmente entre 10-20 micrômetros de diâmetro (Frahm 2008), e são potencialmente adequados à dispersão pelo vento, que é de fato o mecanismo de dispersão mais comum, embora também ocorra dispersão por animal.

Heterogeneidade de Habitats

As ilhas oceânicas apresentam tipicamente um menor número de espécies por unidade de área comparada ao continente devido ao seu isolamento geográfico. Os efeitos apresentados em ilhas de áreas maiores são principalmente devido à presença de maior heterogeneidade de habitats com populações numerosas e, conseqüente, redução na taxa de extinção (MacArthur & Wilson 1967; Rosenzweig 1995 e Cox & Moore 2011). Maiores ilhas oferecem maiores oportunidade para especiação e radiação adaptativa em comparação a ilhas com menores áreas e de menor altitude (Stuessy et al. 2006; Givnish 2010). Os ambientes insulares possuem conseqüências evolutivas significativas porque os organismos contidos respondem ao espaço vazio de nicho através de transformações em suas características de história de vida (Whittaker & Fernandez-Palacios 2007).

O maior impacto sobre os níveis de variação genética dentro e entre populações de espécies insulares originam-se tanto na cladogênese como em anagênese, que podem produzir espécies endêmicas (Stuessy 2007). A cladogênese ocorre quando as populações se dividem espacialmente. Cada porção muda morfológicamente e geneticamente resultando em duas ou mais espécies. Este modo é encontrado com frequência na origem de grandes complexos adaptativos, muitas vezes explicado para ilustrar processos de

evolução em ilhas (Carlquist 1974). A anagênese envolve a sobrevivência e proliferação de uma população imigrante ao longo de muitas gerações sem eventos de divisão (Stuessy & Crawford 1990; Stuessy 2007). Através de mutação e recombinação, a variação genética continua a acumular ao longo de milhões de anos até que o nível da diversidade genética pode aproximar ou ultrapassar a das populações da fonte (Stuessy et al. 2006). O resultado final deste processo pode ser níveis relativamente elevados de variação genética em espécies endêmicas insulares. A anagênese é mais provável em ilhas de baixa altitude e com baixa heterogeneidade de habitats (Stuessy et al. 2006).

Biologia Reprodutiva

As populações vegetais insulares e continentais muitas vezes possuem características biológicas específicas e diferem principalmente em sua biologia reprodutiva e variação genética. Essas populações desenvolveram importantes adaptações para a sobrevivência, em particular os atributos fisiológicos, permitindo tornarem-se populações novas estabelecidas no ambiente (Frankham 1996). As condições de polinização também influenciam na biologia reprodutiva de plantas em maneiras distintas, bem como o tempo da geração de imigração das espécies em ilhas oceânicas. A polinização insuficiente tem favorecido a seleção e promovendo a autofecundação. Forças estocásticas desempenham um papel importante na regulação de padrões de variação genética e as populações insulares são geralmente diferenciadas contendo uma diversidade menor comparada ao continente (Stuessy et al. 2014).

Os modelos de espécies-área obtidos com plantas possuidoras de sementes indicam que há um decréscimo contínuo entre a riqueza de espécies por unidade de área comparada entre continentes e ilhas (Cox & Moore 2011) sendo que existem diferenças até entre as duas formações de ilhas (continentais e oceânicas). Com musgos, segue um padrão entre ilhas oceânicas mostrando a menor riqueza de espécies, mas entre o continente e ilhas continentais mostram valores semelhantes para unidades comparáveis de área (Cox & Moore 2011). Populações de uma espécie insular devem estar aptas a sobreviver a mudanças sazonais em seu ambiente, entretanto, a vida nas ilhas é mais vulnerável do que no continente, porque são menores as oportunidades de uma recolonização. Ao contrário no continente, a probabilidade de extinção de uma espécie pode ser evitada por imigração para outro lugar. Assim, uma ilha irá conter um número menor de espécies do que uma área equivalente com a mesma ecologia no continente (Cox & Moore 2011).

Em hepáticas e samambaias, o padrão é diferente. Considerando que as ilhas com uma pequena área apresentam floras menos ricas e complexidade ecológica limitada, as ilhas continentais e oceânicas de tamanho médio ou grande apresentam níveis de riquezas de espécies semelhantes aos do continente ou até ligeiramente mais elevados (Patiño et al. 2015).

Para organismos sésseis, a obtenção dos recursos depende de estratégias adaptativas e da tolerância às variações ao longo dos gradientes ambientais (Givnish 1999). Sendo assim, as plantas produtoras de esporos em ilhas possuem características específicas reprodutivas tais como o aumento do investimento na reprodução assexuada, e uma maior frequência de brotos férteis, principalmente em briófitas, que contribuem para a colonização e uma maior riqueza em ambientes insulares (Patiño et al. 2015).

Os estudos de reprodução e genética com plantas insulares são importantes para avaliar o nível de distinção entre essas populações e as do continente. Ótimos para testar teorias preocupadas com as consequências genéticas de população que são dispersas por longas distâncias e o papel do efeito gargalo pela evolução (Barrett et al. 1996).

Radiação adaptativa e hibridização em ilhas

Além das floras em ilhas oceânicas, que normalmente apresentam alto nível de endemismo, os ambientes insulares oferecem alguns exemplos de radiação adaptativa (Givnish & Sytsma 1997; Givnish 1998; Givnish 2010). O tamanho pequeno de populações insulares pode limitar a variabilidade genética necessária para a seleção natural de acordo com a deriva de modo que o ritmo rápido de diversificação fenotípica em ilhas é maior que a genotípica (Ohta 1982). A hibridação interespecífica pode ser uma possível fonte de variação genética dentro da espécie (Stebbins 1959; Seehausen 2004).

O alto grau de endemismo em ilhas é devido ao isolamento, pois geralmente são colonizadas por um número restrito de espécies continentais, que em seguida evoluem, podendo ocorrer especiação, bem como uma radiação para novos tipos de habitats (Carlquist 1974; Givnish 1998). A radiação adaptativa é um resultado da seleção natural e de uma oportunidade ecológica envolvendo a diversificação de espécies e adaptações associadas, criando uma concorrência que desempenha papéis distintos no processo. (Schluter 2000; Seehausen 2004; Glor 2010). A competição intraespecífica por recursos impulsiona as espécies em direção ecológica diversificada, enquanto a ausência de competição interespecífica em ambientes não colonizados constitui oportunidades ecológicas para o estabelecimento de espécies em novos ambientes. À medida que o

hábitat e o nicho são preenchidos por novas espécies, a competição interespecífica aumenta, as oportunidades ecológicas vão diminuir e a radiação pode cessar. Esta é uma forma na qual a mudança de ambiente competitivo pode ser impressa na filogenia de endemismos insulares. No entanto, as briófitas são caracterizadas por níveis extremamente baixos de endemismo em floras oceânicas, consequência da elevada capacidade de dispersão do grupo (Patiño et al. 2014).

Atualmente tem se investigado a ação de seleção ao nível molecular durante as radiações adaptativas em ambientes insulares, e estão sendo respondidas questões importantes e fundamentais na ecologia e taxonomia, bem como respostas de evidências que a seleção positiva funciona a níveis genéticos com codificadores com proteínas durante essas radiações. Esses estudos também são bons testes de hipóteses sobre as idades das espécies individuais ou em comunidades inteiras (Barrier et al. 2001; Remington & Purugganan 2002; Kapralov & Filatov 2006; Gavrillets & Losos 2009, Kassen 2009; Losos & Mahler 2010; Kapralov et al. 2013). As consequências genéticas de especiação podem ser um resultado de dispersão de diferentes ambientes em uma seleção forte, ocorrendo uma rápida mudança na morfologia que geralmente não é acompanhada por alterações genéticas que sejam mensuráveis com marcadores moleculares neutros comumente empregados (Baldwin et al. 1998). Por conseguinte, os níveis de variação genética dentro e entre as populações de cada espécie derivada permanecem baixos. Portanto, a interpretação dos níveis observados de diversidade genética em espécies endêmicas de ilhas oceânicas requer uma ampla compreensão dos organismos e seus ambientes.

As espécies filogeneticamente próximas são muitas vezes compatíveis com exemplos de hibridização interespecífica (Arnold 1997). Esses eventos ocasionais de hibridação permitem radiações adaptativas e são considerados como todo um conjunto de metapopulações, onde mutações adaptativas podem se espalhar através de várias espécies significativamente e acelerar o processo de adaptação (Lewontin & Birch 1966). No entanto, não se sabe quais mutações partilhadas são comuns entre as várias espécies.

Ilha da Trindade

Trindade é uma ilha oceânica brasileira localizada a cerca de 1.100 Km da cidade de Vitória (ES), nas coordenadas 20° 31' 30" S e 29° 19' 30" W e foi erguida há aproximadamente 3 milhões de anos por atividade vulcânica na zona abissal do Atlântico (Alves 1998). As profundidades oceânicas ao redor da ilha atingem 5800 m, e a parte emersa atinge 620 m, com área total de 9,28 km² (Alves 1998). Foi descoberta em 1502 pelo navegador português João Nova e no ano seguinte, Estevão Gama a nomeou de Trindade (Alves 1998) (Figuras 1 e 2).

Em 1783, Trindade foi colonizada por 130 açorianos que após a sua retirada pelos portugueses no ano de 1795, deixaram para trás rebanhos de cabras, porcos e outros animais, anteriormente introduzidos por Edmund Halley em 1700), os quais tornaram-se ferais. Estima-se que ao longo do tempo o número de cabras tenha atingido mais de mil cabeças, que não tinham predadores naturais, além de centenas de porcos (Martins & Alves 2007). Esses animais foram responsáveis pela destruição de grande parte das espécies vegetais nativas da ilha. Em 1994 a Marinha do Brasil empreendeu esforços para erradicar os animais introduzidos na ilha, em especial as cabras (Silva & Alves 2011). Estima-se que em 2004 as cabras tenham sido totalmente eliminadas, o que tem possibilitado a recuperação da vegetação nativa.



Figura.1. Localização da Ilha da Trindade (distância do continente). Fonte: Google maps.

A ilha é quase inteiramente constituída de rochas vulcânicas, seu relevo é do tipo acidentado e irregular com escarpas íngremes, penhascos, vales profundos e platôs aluviais dos quais se erguem os picos: Morro Vermelho, a fase vulcânica mais jovem, formado por um cânion que provavelmente teria sido um córrego; Pico do Desejado, o pico de maior altitude 600 metros; São Bonifácio e Trindade. A partir deles fluem os três principais córregos da ilha (Alkimim-Faria et al. 2012), sendo Trindade a única Ilha oceânica brasileira a possuir água doce.

O clima da Ilha é do tipo tropical atlântico a semi-árido com temperaturas médias mensais quase uniformes, oscilando entre 22° C e 25° C e está sob os ventos alísios do Sudeste (Barros 1950).



Figura.2. Ilha da Trindade

Atualmente, segundo a Constituição brasileira, Trindade pertence à União e é administrada pela Marinha do Brasil. Ao longo dos anos a ilha serviu como base para guarnições militares brasileiros, presídio político, guarnição militar durante a primeira guerra mundial e como ocupação estratégica durante a segunda guerra mundial (Alves 1998), mas só foi ocupada em definitivo em 1957 com a criação do POIT (Posto Oceanográfico da Ilha da Trindade) (Serafini et al. 2010), que segue ativo até hoje

abrigando uma guarnição com cerca de 30 militares, como um destacamento do 1º Distrito Naval (Leal 1991). A ilha possui localização estratégica do ponto de vista geopolítico e sua posse garante uma grande área de zona econômica exclusiva de 370km em torno da ilha bem próxima ao pré-sal.

Vegetação e endemismo da ilha

Pouco se sabe da vegetação original da Ilha da Trindade, há apenas relatos e poucas coleções feitas pelos viajantes dos séculos XVIII e XIX. O primeiro naturalista a desembarcar na Ilha foi o famoso astrônomo Edmund Halley em 1700, a ele é creditado o feito de haver introduzido o primeiro casal de cabras (trazidas por ele da Ilha de Santa Helena). O célebre botânico inglês J. D. Hooker esteve na Ilha em 1839 e ali realizou coletas botânicas (hoje perdidas).

Atualmente, abaixo de 100 metros de altitude, existem basicamente campos de gramíneas e ciperáceas e apenas nos topos dos morros existe ainda floresta, em especial a “floresta nebulosa de samambaias gigantes” dominadas pelo gênero *Cyathea* (Alves 1998).

A flora da ilha é composta por 113 espécies vasculares (Alves 1998; Alves 2006), 32 espécies de briófitas entre Musgos (11 espécies em oito famílias), Hepáticas (20 espécies em seis famílias) e uma espécie de Antóceros (Alkimim-Faria et al. 2012).

Graças ao seu isolamento, a flora dessa ilha oceânica tem uma considerável proporção de espécies endêmicas totalizando doze, destacando-se os fetos arborescentes de samambaias (*Cyathea copelandii* Kuhn & Luer (Cyatheaceae), fanerógamas endêmicas como *Cyperus atlanticus* Hemsl e *Bulbostylis nesiotis* (Hemsl.) C.B. Clarke (Cyperaceae), *Peperomia beckeri* E.F.Guim. & R.J.V.Alves (Piperaceae) e *Achyrocline disjuncta* Hemsl. (Asteraceae). Bem como uma única briófito pleurocárpica (*Isopterygium tenerifolium* Mitt.). Além disso, a ilha abriga também diversas espécies endêmicas de peixes e invertebrados (Alves 1998).

Briófitas da Ilha da Trindade

O primeiro registro de briófitas da Ilha da Trindade foi realizado por Alves (1998), ao realizar um levantamento florístico geral da ilha, contendo uma lista com oito espécies briófitas..

Em 2010, houve o primeiro levantamento focado nas briófitas realizado na ilha. Alkimim-Faria et al. (2012) que revelou a presença de 32 espécies de briófitas, entre elas táxons endêmicos da Mata Atlântica como *Campylopus fragilis* (J.-P. Frahm) J.-P. Frahm

subsp. *fragiliformis* (Figura 3) que era conhecido apenas dos fragmentos de Mata Atlântica do Sudeste do Brasil. Isso sugeriu que a vegetação da Ilha da Trindade segue os padrões de dispersão a longa distância citados por Muñoz et al. (2004), com diásporos oriundos do continente sul-americano em direção a África chegando em Trindade.

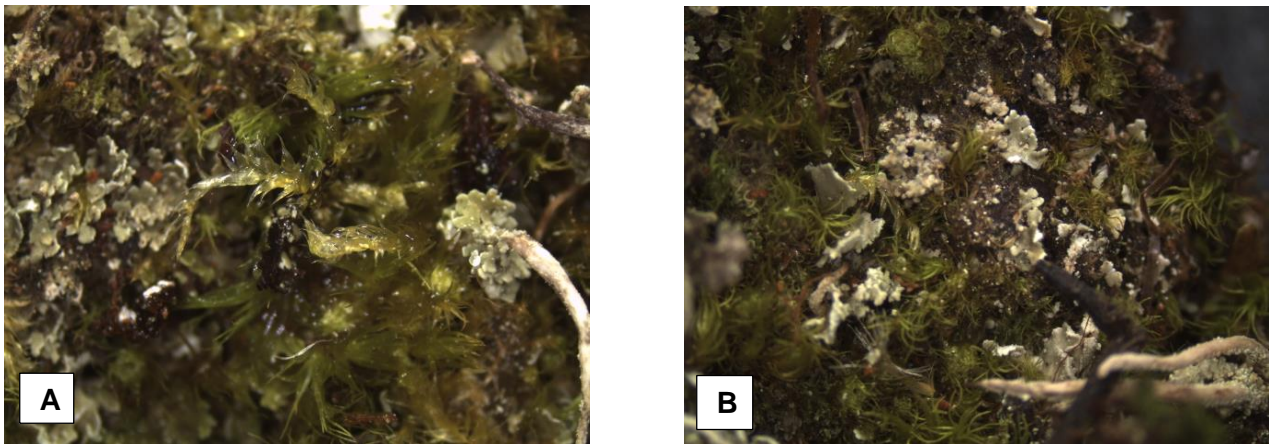


Figura 3. *Campylopus fragilis* subsp. *fragiliformis*. **A.** Planta hidratada. **B.** Planta desidratada.

Com a eliminação das cabras e a recuperação gradual da vegetação, mais espécies da Mata Atlântica poderiam vir a se estabelecer na ilha. Levando em consideração que a Mata Atlântica é um dos biomas mais ameaçados do mundo, a vegetação da ilha assume um papel importante na conservação dessas espécies.

Dessa forma a determinação e a identificação das populações de plantas continentais que podem estar fornecendo diásporos para colonização da ilha podem ser particularmente importantes para o manejo e conservação dessas áreas e da Ilha da Trindade.

Outro fato que merece atenção em relação aos musgos da Ilha da Trindade foram populações de indivíduos identificados como *Campylopus pilifer* Brid. (Figura.4).

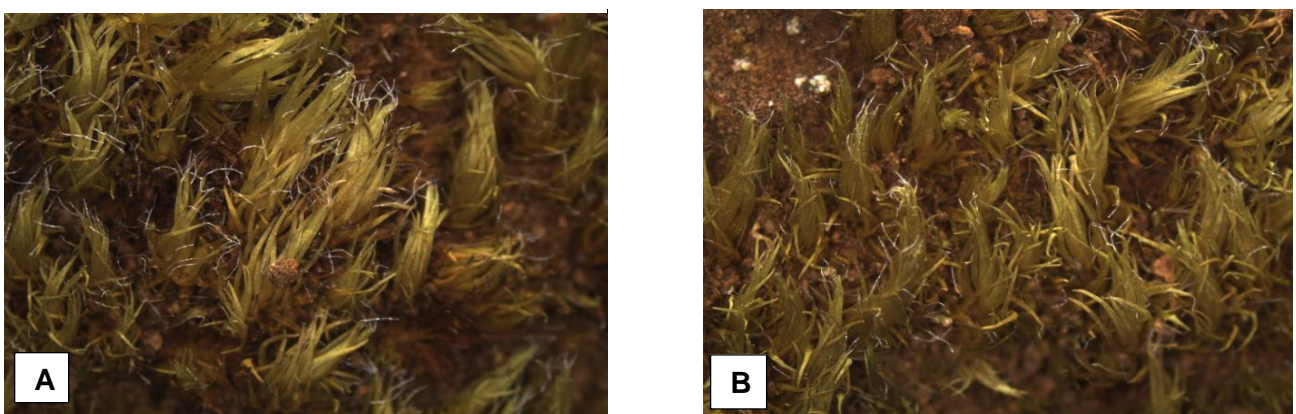


Figura.4. *Campylopus pilifer*. **A.** Planta hidratada. **B.** Planta desidratada.

As populações de *C. pilifer* da Ilha da Trindade apresentam diferenças morfológicas (tamanho bastante reduzido) quando comparados com seus pares continentais (Alkimim-Faria et al. 2012). Stech et al. (2007) investigando essa espécie com uso de marcadores moleculares puderam verificar a existência de pelo menos dois clados, um da América Central e Norte e outro Neotropical, além de representantes de *C. pilifer* que foram encontrados em outros clados, sugerindo que o conceito morfológico de espécie aplicado a *C. pilifer* pode não refletir a sua diversidade genética. Dessa forma deve haver várias linhagens evolutivas conhecidas como *C. pilifer* no mundo.

Embora ambas as espécies citadas acima não tenham sido consideradas morfologicamente como espécies novas ou endêmicas da ilha, certamente o isolamento geográfico dessas populações pode já estar se refletindo em sua forma, o que indicaria que processos de especiação podem estar ocorrendo.

Pteridófitas da Ilha da Trindade

O único levantamento de pteridófitas em Trindade é o de Alves (1998). Nesse trabalho foram registradas 21 espécies de pteridófitas, incluindo táxons endêmicos como *Asplenium beckeri* Brade; *A. praermorsum* Sw. var. *trinidadense* Brade (Aspleniaceae), *Doryopteris campos-portoi* Brade (Pteridaceae), *Elaphoglossum beckeri* Brade (Dryopteridaceae), *Pecluma insularis* Brade; *Pleopeltis trinidadensis* Brade (Salino) (Polypodiaceae), além de um estróbilo da espécie *Equisetum* cf. *giganteum* L. (Equisetaceae) aparentemente levado pela maré, pois nenhum organismo dessa espécie foi encontrado na ilha.

Cyathea copelandii Kuhn & Luerksen é a espécie de Pteridófitas mais abundante na ilha. Essa espécie, de porte arbóreo, é nativa da ilha e dominante na parte alta da mesma (acima 600m), onde forma a “Floresta Nebular de Samambaias Gigantes”, responsável por 90% do extrato arbóreo remanescente de Trindade (Gasparini, 2004). É um tipo de vegetação que no Brasil parece ser exclusivo da Ilha da Trindade (Alves 1998). Sua atual dominância pode ser uma decorrência da seleção predatória, pois esta espécie apresenta um caule extremamente duro, que não apetece às cabras (Alves 1998).

Atualmente estima-se que ocorram cerca de 3400 indivíduos dessa espécie em Trindade formando grandes populações nas altas encostas no lado sul da Ilha, sendo seu limite inferior na Ilha à quota dos 400 m (Alves 1998).

Cyathea copelandii foi coletada por quase todos os botânicos que já foram para a

Ilha da Trindade. A população ocorrente na Ilha da Trindade era tida como espécie distinta das do continente e endêmica da Ilha; no entanto Tryon & Tryon (1982) sinonimizaram *C. copelandii* com *C. delgadii* Sternb. (Figura 5). Alguns pesquisadores reconhecem que existem diferenças no indumento e no indúcio, mas a maioria tem considerado estas diferenças insignificantes, concordando com a sinonímia proposta.

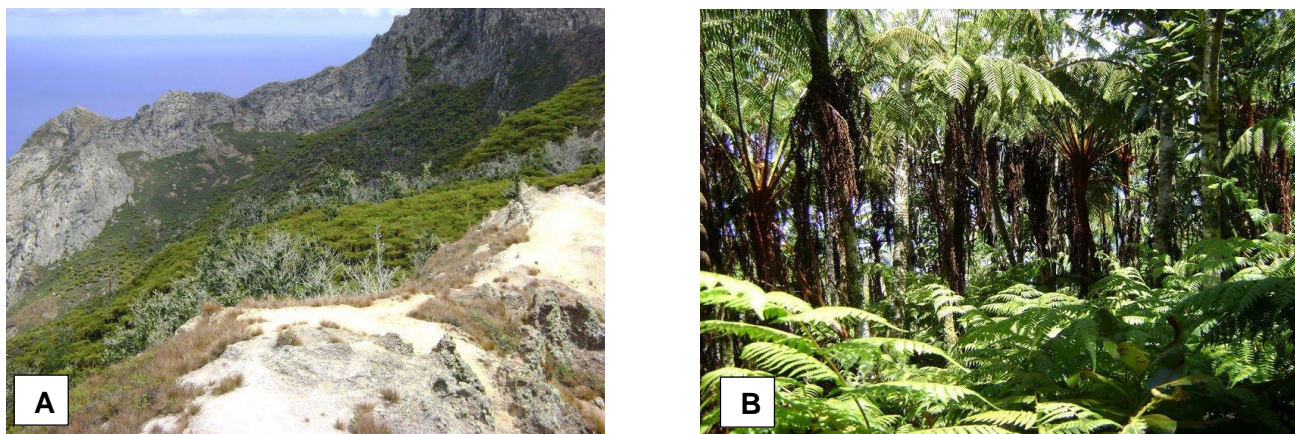


Figura.5. Floresta de Samambaias. **A.** População de Samambaias. **B.** Indivíduos de *Cyathea*.

Como nenhuma das duas espécies (*C. copelandii* e *C. delgadii*) foram amostradas na filogenia existente de Cyatheaceae (Korall et al. 2007), não existe base filogenética para suportar ou não tal sinonimização ou para o reconhecimento de ambas como espécies distintas.

Este estudo propiciará melhor entendimento sobre o processo de colonização vegetal da ilha, esclarecendo as relações entre a população da ilha e entre essas e as do continente, analisando o verdadeiro grau de endemismo em Trindade e revelando a origem dos diásporos que chegaram à ilha. Ambos fornecerão subsídios importantes para a conservação das áreas (fontes) no continente bem como da vegetação da ilha, que se encontra em pleno processo de recolonização.

Objetivos

A presente tese objetivou estudar as populações de *Campylopus pilifer* Brid., *Campylopus fragiliformis* J.-Frahm e *Cyathea copelandii* Kuhn & Luer. da Ilha da Trindade a fim de melhor entender o valor evolutivo e utilidade taxonômica das variações morfológicas encontradas entre as populações insulares e seus pares continentais.

Numa escala macroevolutiva, propõe-se esclarecer a posição filogenética das

espécies citadas (*C. pilifer*, *C. fragiliformis* e *C. copelandii*) e resolver problemas taxonômicos relacionados. Ao mesmo tempo, procura-se contribuir para a compreensão da diversificação destes grupos na Ilha de Trindade.

Objetivos específicos

1. Realizar estudos filogenéticos com populações de *C. pilifer*, *C. fragilis* e *Cyathea* da Ilha da Trindade para o conhecimento de suas relações filogenéticas com seus parentes continentais.
2. Utilizar marcadores moleculares para verificar se a variação morfológica encontrada entre as populações de *C. pilifer*, *C. fragilis* e *Cyathea* da Ilha da Trindade e seus pares continentais se reflete em sua diversidade genética.
3. Utilizar dados moleculares obtidos dos espécimes coletados para investigar os padrões biogeográficos entre as populações da ilha e as do continente.
4. Melhorar o entendimento de quais fatores influenciam distribuição e colonização de plantas da Ilha da Trindade.

Modelo de organização da tese

De acordo com as diretrizes estabelecidas pelo Programa de Pós-Graduação em Botânica / UnB e devido às facilidades deste modelo, a tese foi dividida em formato clássico de dissertação e em artigos divididos em dois capítulos, cada um correspondendo a uma publicação em revista científica:

Capítulo 1: Identidade e origem de *Campylopus* (Leucobryaceae, Bryopsida) da Ilha da Trindade - Brasil.

Capítulo 2: A *Cyathea* da Ilha da Trindade é um caso de endemismo? Uma abordagem filogenética e morfológica.

Referências

- Alsos, I. G., Ehrich, D., Eidesen, P. B., Solstad, H., Westergaard, K. B., Schonswetter, P., Tribsch, A., Birkeland, S., Elven, R. & Brochmann, C. 2015. Long-distance plant dispersal to North Atlantic islands: colonization routes and founder effect. *AoB Plants* 7: 1-19.
- Alkimim-Faria, A. L. A., Carvalho-Silva, M., Costa, D. P. & Câmara, P. E. A. S. 2012. The bryophytes of Trindade Island, South Atlantic, Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 26: 783-793.
- Almeida, F. F. M. de. 2006. Ilhas oceânicas brasileiras e suas relações com a tectônica atlântica. *Terræ Didática* 2(1): 3-18.
- Alves, R. J. V. 1998. Ilha da Trindade e Arquipélago Martin Vaz - Um Ensaio Geobotânico. Serviço de Documentação Marinha do Brasil; 144 pp., Diretoria de Hidrografia e Navegação, Niterói, RJ.
- Alves, R. J. V. 2006. Terrestrial vascular floras of Brazil's Oceanic Archipelagos. In: Alves, R.J.V. & Castro, J.W.A. Ilhas oceânicas brasileiras – da pesquisa ao manejo. Ministério do Meio Ambiente, Brasília. Pp. 85-103
- Arnold, M. L. 1997. Natural hybridisation and evolution. New York: Oxford University Press. 215p.
- Arensburger, P., Buckley, T. R., Simon, C., Moulds, M.; Holsinger, K. E. 2004. Biogeography and phylogeny of the New Zealand cicada genera (Hemiptera: Cicadidae) based on nuclear and mitochondrial DNA data. *Journal of Biogeography* 31:557-569.
- Baldwin, B. G., Crawford, D. J., Francisco-Ortega, J., Kim, S. C. Sang, T. & Stuessy, T. 1998. Molecular phylogenetic insights on the origin and evolution of oceanic island plants. In: Soltis D.E, Soltis, P. S, Doyle, J. J, eds. *Molecular systematics of plants II. DNA sequencing*. Norwell: Kluwer Academic Publishers, 410-441.
- Barros, J. A. L. 1950. Relatório prévio sobre a expedição João Alberto à Ilha da Trindade. 275 pp. datil. ined., Rio de Janeiro.

- Barrett, S.C.H., Emeson, B. & Mallet, J. 1996. The reproductive biology and genetics of island plants. *Philosophical Transactions Biological Sciences* 1341 (351): 725-733.
- Barrier, M. R. H., Robichaux, R. H. & Purugganan, D. 2001. Accelerated regulatory gene evolution in an adaptive radiation. *Proceedings of the National Academy of Science USA* 98: 10208-10213.
- Baum, D. A., Small, R. L. & Wendel, J. F. 1998. Biogeography and floral evolution of baobabs (*Adansonia*, Bombacaceae) as inferred from multiple data sets. *Systematic Biology* 47: 181-207.
- Carlquist, S. 1974. *Island Biology*. Columbia University Press, New York, 660p.
- Cook, L. G. & Crisp, M. D. 2005. Directional asymmetry of long-distance dispersal and colonization could mislead reconstructions of biogeography. *Journal of Biogeography* 32: 741-754.
- Cooper, A., Lalueza-Fox, C., Anderson, S., Rambaut, A. & Austin, J. 2001. Complete mitochondrial genome sequences of two extinct moas clarify ratite evolution. *Nature* 409: 704-707.
- Cronk, Q. C. B. 1997. Islands: stability, diversity, conservation. *Biodiversity and Conservation* 6: 477-493.
- Cox, C. B. & Moore, P. D. 2011. *Biogeografia: uma abordagem ecológica e evolucionária*. Rio de Janeiro: LTC, 398p.
- Darwin, C. 1859. *On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life*, London: John Murray 549p.
- Emerson, B. C. 2002. Evolution on oceanic islands: molecular phylogenetic approaches to understanding pattern and process. *Molecular Ecology* 2002 11: 951-966.
- Fayard, J., Klein, E. K. & Lefèvre, F. 2009. Long distance dispersal and the fate of a gene from the colonization front. *Journal Evolutionary Biology* 22: 2171-2182.
- Fernández-Palacios, J. M., de Nascimento, L., Otto, R., Delgado, J. D., García del Rey, E., Arévalo, J. R. & Whittaker, R. J. 2011. A reconstruction of PaleoMacaronesia, with

particular reference to the long-term biogeography of the Atlantic islands laurel forests. *Journal of Biogeography* 38: 226-246.

Fonseca, G. A. B., Mittermeier, R. A. & Mittermeier, C. G. 2006. Conservation of island biodiversity – importance, challenges and opportunities. Center for Applied Biodiversity Sciences, Conservation International, 16 p., Washington, DC, USA.

Frahm, J. P. Diversity, dispersal and biogeography of bryophytes (mosses). 2008. *Biodiversity and Conservation* v. 17, p. 277-284.

Frankham, R. 1996. Relationship of genetic variation to population size in wildlife. *Conservation Biology* 10:1500-1508.

Frankham, R. 1997. Do island population have less genetic variation than mainland populations? *Heredity* 78: 311-327.

Gasparini, J. L. 2004. Ilha da Trindade e Arquipélago Martin Vaz: pedaços de Vitória no azul atlântico. Vitória, GSA, 100p.

Givnish, T. J. & Sytsma, K. J. 1997. *Molecular Evolution and Adaptive Radiation*. Cambridge University Press, Cambridge.

Givnish, T. J. 1998. Adaptive radiation and molecular systematics: issues and approaches. In: *Molecular Evolution and Adaptive Radiation* (eds Givnish TJ, Sytsma KJ), pp. 1 - 54. Oxford University Press, London.

Givnish, T. J. 2010. Ecology of plant speciation. *Taxon* 59: 1326-1366.

Gavrilets, S. & Losos, J. B. 2009. Adaptive radiation: contrasting theory with data. *Science* 323: 732-737.

Glor, R. E. 2010. Phylogenetic insights on adaptive radiation. *Annual Review in Ecology, Evolution and Systematics* 41: 251-270.

Hansen, D. M. & Traveset, A. 2012. An overview and introduction to the special issue on seed dispersal on islands. *Journal of biogeography* 39:1935-1937.

Hess, H. H. 1946. Drowned ancient islands of the Pacific Basin. *American Journal of Science* 244: 772-791.

- Holland, R. A.; Wikelski, M. & Wilcove, D. S. 2006. How and why do insects migrate? *Science* 313: 794-796.
- Kapralov, M. V. & Filatov, D. A. 2006. Molecular Adaptation during Adaptive Radiation in the Hawaiian Endemic Genus *Schiedea*. *PLoS ONE* 1(1):1-8.
- Kapralov, M. V., Votintseva, A. A. & Filatov, D.A. 2013. Molecular adaptation during a rapid adaptive radiation. *Molecular Biology and Evolution* 30:1051-1059
- Kassen, R. 2009. Towards a general theory of adaptive radiation: insights from microbial experimental evolution. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1168: 3-22.
- Korall, P., Conant, D.S., Metzgar, J.S., Schneider, H. & Pryer, K.M. 2007. A molecular phylogeny of scaly tree ferns (Cyatheaceae). *American Journal of Botany* 94: 873-886.
- Leal, J. H. N. 1991. Marine Prosobranch Gastropods from Oceanic Islands off Brazil - Species Composition and Biogeography.- 418 pp., Universal Book Services, Oegstgeest, NL.
- Lewontin, R. C & Birch, L. C. 1966. Hybridization as a source of variation for adaptation to new environments. *Evolution* 20: 315-336.
- Losos, J. B. & Mahler, D. L. 2010. Adaptive radiation: the interaction of ecological opportunity, adaptation, and speciation. Pp. 381-420 in M. A. Bell, D. J. Futuyma, W. F. Eanes, and J. S. Levinton, Eds. *Evolution Since Darwin: The First 150 Years*. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Lomolino, M.V., Riddle, B.R. Whittaker, R.J. & Brown, J.H. 2010. *Biogeography*, 4rd edn. Sinauer Associates, Sunderland, MA. Pp 764.
- MacArthur, R. H. & Wilson, E. O. 1967. *The theory of island biogeography*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Martins, L. S. G. & Alves, R. J. V. 2007. Regeneração Natural do Morro Vermelho, Ilha da Trindade. *Revista Brasileira de Biociências* 5(1): 39-41.
- Medina, N. G., Draper I., Lara, F. 2011. Biogeography of mosses and allies: does size

- matter. In: Fontaneto, D. (ed.) *Biogeography of microscopic organisms: is everything small everywhere*. Cambridge University Press, Cambridge, Pp 209-233.
- Mohr, L. V., Castro, J. W. A., Costa, P. M. S. & Alves, R.J.V. 2009. *Ilhas oceânicas brasileiras: da pesquisa ao manejo vol. II*. Ministério do Meio Ambiente – Secretaria de Biodiversidade e Florestas—Brasília: MMA. 502p.
- Muñoz, J., Felicísimo, A. M., Cabezas, F., Burgaz, A. & Martínez, I. 2004. Wind as a long-distance dispersal vehicle in the Southern Hemisphere. *Science* 304: 1144-1147.
- Nagarajan, S. & Singh, D. V. 1990. Long-distance dispersion of rust pathogens, *Annual Review of Phytopathology* 28: 139-153.
- Nathan, R. 2006. Long-distance dispersal of plants. *Science* 313: 786-788.
- Ohta, T. 1982. Linkage disequilibrium with the island model. *Genetics*, 101, 139–155.
- Patiño, J., Bisang, I., Hedenäs, L., Dirkse, G. M., Bjarnason, A. H., Ah-Peng, C. & Vanderpoorten, A. 2013. Baker's law and the island syndromes in bryophytes. *Journal of Ecology* 101: 1245-1255.
- Patiño, J., Carine, M. A., Fernández-Palacios, J. M., Otto, R. & Schaefer, H. 2014. The anagenetic world of spore-producing plants. *New Phytologist*: 305-311.
- Patiño, J., Sólymos, P., Carine, M., Weigelt, P. Kreft, H. & Vanderpoorten, A. 2015. Island floras are not necessarily more species - poor than continental ones. *Journal of Biogeography* 42: 8-10.
- Raven, P. H. & Axelrod, D. I. 1974. Angiosperm biogeography and past continental movements. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 61: 39-637.
- Remington, D. L. & Purugganan, M. D. 2002. GAI homologues in the Hawaiian Silversword alliance (Asteraceae-Madiinae): molecular evolution of growth regulators in a rapidly diversifying plant lineage. *Molecular Biology and Evolution* 19: 1563-1574.
- Renner, S. 2004. Plant dispersal across the tropical Atlantic by wind and sea currents. *International Journal of Plant Science* 165: S23-S33.
- Rosenzweig, M. L. 1995. *Species Diversity in Space and Time*. Cambridge, UK: Cambridge

University Press.

- Silva, N. G. & Alves, R. J. V. 2011. The eradication of feral goats and its impact on plant biodiversity – a milestone in the history of Trindade Island, Brazil. *Rodriguésia* 62: 717-719.
- Sanmartín, I. & Ronquist, F. 2004. Southern hemisphere biogeography inferred by event-based models: plant versus animal patterns. *Systematic Biology* 53: 216 - 243.
- Sanmartín, I., Wanntorp, L. & Winkworth, R.C. 2007. West Wind Drift revisited: testing for directional dispersal in Southern Hemisphere using event-based tree fitting. *Journal of Biogeography* 34: 398-416.
- Schluter, D. 2000. *The Ecology of Adaptive Radiation*. Oxford University Press, Oxford. 296p.
- Serafini, T.Z., França, G. B. & Andriguetto-Filho, J. M., 2010. Ilhas oceânicas brasileiras: biodiversidade conhecida e sua relação com o histórico de uso e ocupação humana. *Journal of Integrated Coastal Zone Management* 10: 281-301.
- Seehausen, O. 2004. Hybridization and adaptive radiation. *Trends of Ecology Evolution* 19: 198-207.
- Stebbins, G .L. The role of hybridization in evolution. *Proceedings American Philosophical Society, Philadelphia*, 103: 231-51, 1959
- Stech, M., Sim-Sim, M. & Frahm, J.P. 2007. *Campylopus* (Leucobryaceae, Bryopsida) on Madeira island - Molecular relationships and biogeographic affinities. *Nova Hedwigia* 131: 91-100.
- Stuessy, T. & Crawford, D. J. 1990. Patterns of phylogeny in the endemic vascular flora of the Juan Fernandez Islands, Chile. *Systematic Botany* 15: 338-346.
- Stuessy, T. F., Crawford, D. J., Marticorena, C. & Rodríguez, R. 1998. Island biogeography of angiosperms of the Juan Fernandez archipelago. In: Stuessy TF, Ono M, eds. *Evolution and speciation of island plants*. Cambridge: Cambridge University Press, 121-138.

- Stuessy, T. F., Jakubowsky, G., Salguero-Gómez, R. & Kato, H. 2006. Anagenetic evolution in island plants. *Journal of Biogeography* 33: 1259-1265.
- Stuessy, T. F. 2007. Evolution of specific and genetic diversity during ontogeny of island floras: the importance of understanding process for interpreting island biogeographic patterns. In: Ebach MC, Tangney RS, eds. *Biogeography in a changing world*. Boca Raton, FL: CRC Press, 117-133.
- Stuessy, T. F., Takayama, K., López-Sepúlveda, P. & Crawford, D. J. 2014. Interpretation of patterns of genetic variation in endemic plant species of oceanic islands. *Botanical Journal of the Linnean Society* 174: 276-288.
- Sundberg, S. 2013. Spore rain in relation to regional sources and beyond. *Ecography* 36: 364-373.
- Szovényi, P., Sundberg, S. & Shaw, J. 2012. Long-distance dispersal and genetic structure of natural populations: an assessment of the inverse isolation hypothesis in peat mosses. *Molecular Ecology* 21(22): 5461-5472.
- Vargas, P., Ajona, Y., Nogales, M. & Heleno, R. 2015. Long-distance dispersal to oceanic islands: success of plants with multiple diaspore specializations. *AoB Plants* doi:10.1093/aobpla/plv073.
- Vences, M., Vieites, D. R., Glaw, F., Brinkmann, H., Kosuch, J., Veith, M. & Meyer, A. 2003. Multiple overseas dispersal in amphibians. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 270: 2435-2442.
- Wallace, A.R. 1855. *Annals and Magazine of Natural History da Sociedade Lineana de Londres* vol. 16, 2^a série, p. 184-96.
- Walter, H. S. 2004. The mismeasure of islands: implications for biogeographical theory and the conservation of nature. *Journal of Biogeography* 31(2):177-197.
- Waters, J. M., J. A. Lopez, & G. P. Wallis. 2000. Molecular phylogenetics and biogeography of galaxiid fishes (Osteichthyes: Galaxiidae): Dispersal, vicariance, and the position of *Lepidogalaxias salamandroides*. *Systematic Biology*. 49: 777–795.

- Whittaker, R. J. & Fernández-Palacios, J. M. 2007. *Island Biogeography: ecology, evolution, and conservation*, 2nd edition. Oxford University Press. Oxford. 412pp.
- Wilson, J. T. 1965. A new class of faults and their bearing on continental drift. *Nature* 207 343-347.
- Wilkinson, D. M., Koumoutsaris, S., Mitchell, E. A. D. & Bey, I. 2012. Modelling the effect of size on the aerial dispersal of microorganisms. *Journal of Biogeography* 39: 89-97.
- Winkworth, R. C., Wagstaff, S. J.; Glenny, D. & Lockhart, P. 2002. Plant dispersal N.E.W.S. from New Zealand. *Trends in Ecology & Evolution* 17: 514-520.

Capítulo 1

Identidade e origem de *Campylopus* (Leucobryaceae, Bryopsida) da Ilha da Trindade – Brasil

Resumo - Duas espécies de *Campylopus* (*C. fragiliformis* e *C. pilifer*) foram relatados para a Ilha da Trindade, ilha brasileira situada no Oceano Atlântico Sul cerca de 1100 km da costa do continente do Brasil. Inferências filogenéticas dos espaçadores internos transcritos do ribossomo nuclear e três marcadores plastídiais são consistentes com o reconhecimento das duas espécies de *Campylopus* na Ilha da Trindade. No entanto, as populações de *C. pilifer* da ilha estão agrupadas entre as de *C. introflexus*. e *C. flagilliformis* estão agrupadas com as espécies de *C. occultus*. A re-investigação de caracteres morfológicos confirma que as populações da Ilha da Trindade pertencem a estas espécies. Com base em relações filogenéticas, tanto *C. introflexus* e *C. occultus* provavelmente chegaram a Ilha da Trindade oriundos da América do Sul. A colonização da Trindade por *C. introflexus* em particular pode ter sido facilitado pelo impacto humano severo sobre a vegetação original ao longo dos últimos cinco séculos.

Palavras chave: *atpI-atpH*, Oceano Atlântico Sul, *Campylopus introflexus*, *Campylopus occultus*, Colonização insular.

Introdução

Trindade é uma ilha oceânica brasileira no Atlântico Sul que surgiu há três milhões de anos por vulcanismo (Serafini et al. 2010). Trindade teve uma história de colonização humana complexa a partir do momento de sua descoberta em 1502 pelo navegador Português João da Nova. Depois de ter sido usado por piratas e mercadores de escravos, tentativas de colonização pelos açorianos britânicos, no século XVIII houve um forte impacto na ilha, especialmente devido à introdução de cabras e outros animais que destruíram a vegetação original quase por completo (Silva & Alves 2011; Faria et al. 2012).

A brioflora de Trindade compreende 32 espécies sendo 20 hepáticas, 11 musgos e um antócero (Faria et al., 2012). As afinidades biogeográficas são mais similares com o Brasil, mais especificamente com os fragmentos de Mata Atlântica da Região Sudeste, com o qual compartilha 96% de sua brioflora (Faria et al. 2012). No entanto, o forte impacto humano histórico e a possível função de Trindade como uma ponte entre o Velho e o Novo Mundo, pode ter levado às mais diversas origens das populações de briófitas encontradas na ilha. Embora a brioflora da Trindade já seja bastante conhecida, a identidade de espécies do gênero *Campylopus* Brid. (Cf. Frahm, 1980, 1987, 1988, 1990, 1991; Stech, 2004; Stech & Dohrmann 2004; Stech & Wagner 2005; Stech et al. 2010) ainda precisa de estudos mais aprofundados. Faria et al. (2012) incluíram dois táxons de *Campylopus* no inventário da Ilha da Trindade: *C. fragilis* subsp. *fragiliformis* (J.-P. Frahm) J.-P. Frahm e *C. pilifer* Brid. A primeira espécie é endêmica da Mata Atlântica no Brasil e foi inicialmente considerada uma espécie distinta, *C. fragiliformis* J.-P. Frahm. *Campylopus pilifer* é um táxon principalmente encontrado na América tropical, África, partes do Oriente Médio e da Ásia, estendendo-se para a Europa e América do Norte, com as populações do Novo Mundo e Velho Mundo compondo duas linhagens moleculares distintas (Stech & Dohrmann 2004).

As populações de *Campylopus* na Ilha da Trindade exibem morfologias peculiares quando comparado com os seus homólogos continentais. As espécies *C. pilifer* da Ilha da Trindade são notavelmente menores do que aqueles encontrados no continente e exibem menores lamelas dorsais sob a costa. Os espécimes de *C. fragiliformis* foram encontrados formando tufos, uma característica não ainda não reportada para essa espécie (Frahm 1979).

Estudos filogenéticos moleculares recentes têm ajudado a esclarecer relações sistemáticas e biogeográficas das populações insulares no gênero *Campylopus* (Stech et

al. 2007, 2010) e de briófitas em geral (Sim-Sim et al. 2005; Stech et al. 2008; Laenen et al. 2011; Patiño et al. 2013a, b; Draper et al. 2015). No entanto, nenhum estudo molecular está disponível ainda para ilhas do Atlântico Sul tal como Trindade.

O objetivo desse trabalho é confirmar a identidade das espécies de *Campylopus* que ocorrem na Ilha da Trindade, bem como inferir as origens geográficas das populações insulares, com base no DNA nuclear (ITS), cloroplasto (*atpB-rbcL*, *atpl-atpH* e *trnL-trnF*) e morfologia.

Material e métodos

Amostragem

Um conjunto de dados moleculares compreendendo as sequências do espaçador *atpB-rbcL*, região *trnL-trnF* e ITS para 58 espécimes de *Campylopus* e dois exemplares do *Pilopogon* Brid. (outgroup) foi compilado a partir Stech & Dohrmann (2004) e Stech et al. (2010). Quatorze novos espécimes foram sequenciados para o presente estudo, e as informações e números de acesso GenBank estão na tabela 1. Além disso, vários marcadores plastidiais (*ATP-atpH*, *psbA-trnH*, *rps7-rps12*, *trnS-rps4*, *rps4-trnT*) foram testados quanto à eficiência de amplificação e sequenciamento, bem como a variabilidade das sequências. Com base nesses critérios, o espaçador *atpl-atpH* foi selecionado e sequenciado para o presente estudo.

Extração de DNA, amplificação e sequenciamento

O DNA genômico foi extraído utilizando o Kit NucleoSpin® Planta II (Macherey-Nagel, Düren, Alemanha). Os protocolos de amplificação por PCR seguem Gama et al. (2015) para os marcadores nucleares e plastidiais.

Novos primers foram concebidos para o espaçador *atpl-atpH* recém investigado com base em *Campylopus introflexus* com as sequências: F 5'-ACAGACGCAGCAGAAATTAAGG-3' e *atpH_R* 5'-AGGGGAATCGTTAGAAGGTCAT-3', com o uso do plugin – primer 3 com o uso do programa Geneious R8 (Kearse et al., 2012).

Reconstrução filogenética

As sequências foram alinhadas com o uso do Mafft (Kato et al. 2002) incorporado no Geneious R8 (Kearse et al. 2012), ajustado manualmente e as depois concatenadas. Os gaps no alinhamento foram tratados como informativos por codificação de Indel simples (SIC) (Simmons & Ochoterena 2000) usando SeqState (Müller 2004). As análises

filogenéticas foram realizadas utilizando os critérios de máxima verossimilhança (ML) e inferência Bayesiana (BI). O modelo GTR + Γ , foi selecionado sob o critério de informações aplicadas nas abordagens baseadas nos modelos de Akaike em jModelTest 2 (Guindon e Gascuel 2003; Darriba et al. 2012). A análise separada com cada um dos marcadores foi realizada para verificar se havia incongruências. Árvores de máxima verossimilhança foram calculadas utilizando RaxML v8.0.26 (Stamatakis 2014) empregando o v.1.3.1 raxmlGUI (Silvestro & Michalak 2012). Os valores de suporte de bootstrap foram obtidos com um algoritmo de inicialização completa e 10.000 pseudo-réplicas. Análises Bayesiana foram executadas usando MrBayes v3.2.5 (Ronquist et al. 2012) na v3.1 CIPRES Science Gateway (Miller et al. 2010). As probabilidades posteriores Bayesiana (PP) foram estimadas pelo método Markov Chain Monte Carlo (MCMC). Quatro corridas com quatro cadeias (três quentes e uma fria) foram executadas com 30×10^6 gerações correntes amostradas a cada 1000 gerações e as respectivas árvores gravadas em um arquivo de árvore. Um limiar de $<0,01$ para o desvio padrão de frequências fracionadas foi utilizado para avaliar a convergência das corridas. Uma árvore de consenso (majority rule) foi gerada e 25% das árvores foram descartadas como “burnin”.

Análises morfológicas

A fim de confirmar a identidade dos espécimes provenientes da Ilha de Trindade, o estudo morfológico foi baseado nas mesmas amostras que foram incluídas nas análises moleculares e amostras adicionais dos seguintes herbários: BM, HUCC, L, MO, PC, S, SP, U e UB. As amostras foram reidratadas e montado em uma lâmina com uma solução Hydromatrix (Micro Tecnologia do laboratório, Graz, Áustria) para as observações microscópicas. A preparação das lâminas foi realizada usando um estereoscópio e observações detalhadas do material utilizando um microscópio de luz. Os caracteres utilizados foram: hábito e tamanho da planta, tamanho e forma dos filídios, o formato das células da lâmina, comprimento e largura da costa e anatomia da costa em secção transversal. Para caracterizar a morfologia dos táxons foram definidos com base na literatura (Frahm 1991; Frahm & Stich 2006).

Resultados

O alinhamento do DNA nuclear e plastidial combinados incluindo indels compreendeu um total de 4111 caracteres (ITS1 1–1076, 5.8S rRNA gene 1077–1251,

ITS2 1252–1817, *atpB-rbcL* 1818 – 2472, *atpI-atpH* 2473–2871, *trnL-trnF* 2872–3391, e indels 3392–4111). Resultados dos marcadores individuais não apresentaram incongruência em relação aos clados bem suportados (≥ 0.95 for BI e $\geq 75\%$ para ML). Assim sendo os dados foram concatenados em uma única matriz para as análises filogenéticas sob Inferência Bayesiana (BI) e máxima verossimilhança (ML). A árvore de consenso Bayesiana e a árvore de máxima verossimilhança ideal tiveram topologias semelhantes, divergindo apenas em clados não suportados. A árvore de consenso Bayesiana (Fig. 1) inclui probabilidades posteriores (PP) e suporte de bootstrap ML (BS) mostrado nos nós. Dentro de *Campylopus*, três principais subtipos de relações ambíguas foram resolvidas. O primeiro clado inclui cinco espécies do Sudeste Asiático e do Oceano Índico e carece de suporte nas análises de ML e BI. O segundo clado inclui espécies tropicais e temperadas do sul e é bem suportado. *Campylopus fragiliformis* pertence a este clado, mas os dois espécimes são resolvidos em dois clados: a amostra da Ilha da Trindade é parte do clado de *C. occultus* (PP 1, BS 100%), enquanto a amostra do continente (Brasil) é resolvida como um clado irmão que compreende as espécies *C. fragilis*, *C. pyriformis* (Schultz) Brid., *C. julicaulis* Broth. e *C. occultus* (PP 1, BS 99%). Dentro do terceiro clado, *C. pilifer* é resolvido como parafilético com dois clados das populações do Novo Mundo, e um clado que compreende todos os espécimes do Velho Mundo. Todos os espécimes de *C. pilifer* da ilha de Trindade são agrupados entre os *C. introflexus*, com o qual eles compõem um clado máximo suportado (PP1, BS 100%). Este clado de *C. introflexus* compreende duas linhagens reconhecíveis, um das quais com um alto suporte (PP 0,96, BS 81%), que inclui as amostras da Ilha da Trindade. As sequências das amostras orinudas da ilha do clado *C. introflexus* são quase geneticamente idênticas às do Brasil continental.

Tabela1. Informação dos vouchers e números de acesso ao GenBank para as sequências recém geradas de *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid. E *C. occultus* Mitt.

Espécime	Identificação original	Voucher	Herbário	País – Localidade	Acc. no. <i>atpB-rbcL</i>	Acc. no. <i>atpI-atpH</i>	Acc. no. <i>ITS</i>	Acc. no. <i>trnL-trnF</i>
<i>C. introflexus</i>	-	2 Oct. 2003, <i>Frahm</i>	BONN, L	France – Dept. Finistère	-	KU163121	KU163124	-
<i>C. introflexus</i>	<i>C. incrassatus</i> Müll.	<i>Streimann 49976</i>	BONN, L	Australia – NSW	-	KU163083	KU163125	KU212887
<i>C. introflexus</i>	-	<i>Bordin 129</i>	HUCS	Brazil – Rio Grande do	KU163137	KU163078	KT985061	KU212888
<i>C. introflexus</i>	<i>C. pilifer</i> Brid.	<i>Faria 227</i>	UB	Brazil – Trindade Island	-	KU163117	KU163126	-
<i>C. introflexus</i>	<i>C. pilifer</i>	<i>Faria 77</i>	UB	Brazil – Trindade Island	-	KU163113	KU163127	KU212889
<i>C. introflexus</i>	<i>C. pilifer</i>	<i>Faria 66</i>	UB	Brazil – Trindade Island	-	KU163116	KU163128	-
<i>C. introflexus</i>	<i>C. pilifer</i>	<i>Faria 102</i>	UB	Brazil – Trindade Island	-	KU163112	KU163129	-
<i>C. introflexus</i>	<i>C. pilifer</i>	<i>Faria 848</i>	UB	Brazil – Trindade Island	-	KU163114	KU163130	-
<i>C. introflexus</i>	<i>C. pilifer</i>	<i>Faria 76</i>	UB	Brazil – Trindade Island	-	KU163115	KU163131	-
<i>C. introflexus</i>	<i>C. pilifer</i>	<i>Faria 106</i>	UB	Brazil – Trindade Island	-	-	KU163132	KU212890
<i>C. occultus</i> 01	<i>C. flexuosus</i> (Hedw.)	<i>Müller R284</i>	BONN, L	France – Réunion Island	-	KU163120	KU163133	-
<i>C. occultus</i> 02	<i>C. pilifer</i> -P <i>Frahm</i>	<i>Faria 610</i>	UB	Brazil – Trindade Island	-	-	KU163134	KU212891
<i>C. occultus</i> 03	-	<i>Yano & Peralta 32359</i>	SP	Brazil – São Paulo	-	KU163094	KU163135	KU212892
<i>C. occultus</i> 04	-	<i>Yano & Peralta 31880</i>	SP	Brazil – São Paulo	-	KU163099	KU163136	KU212893

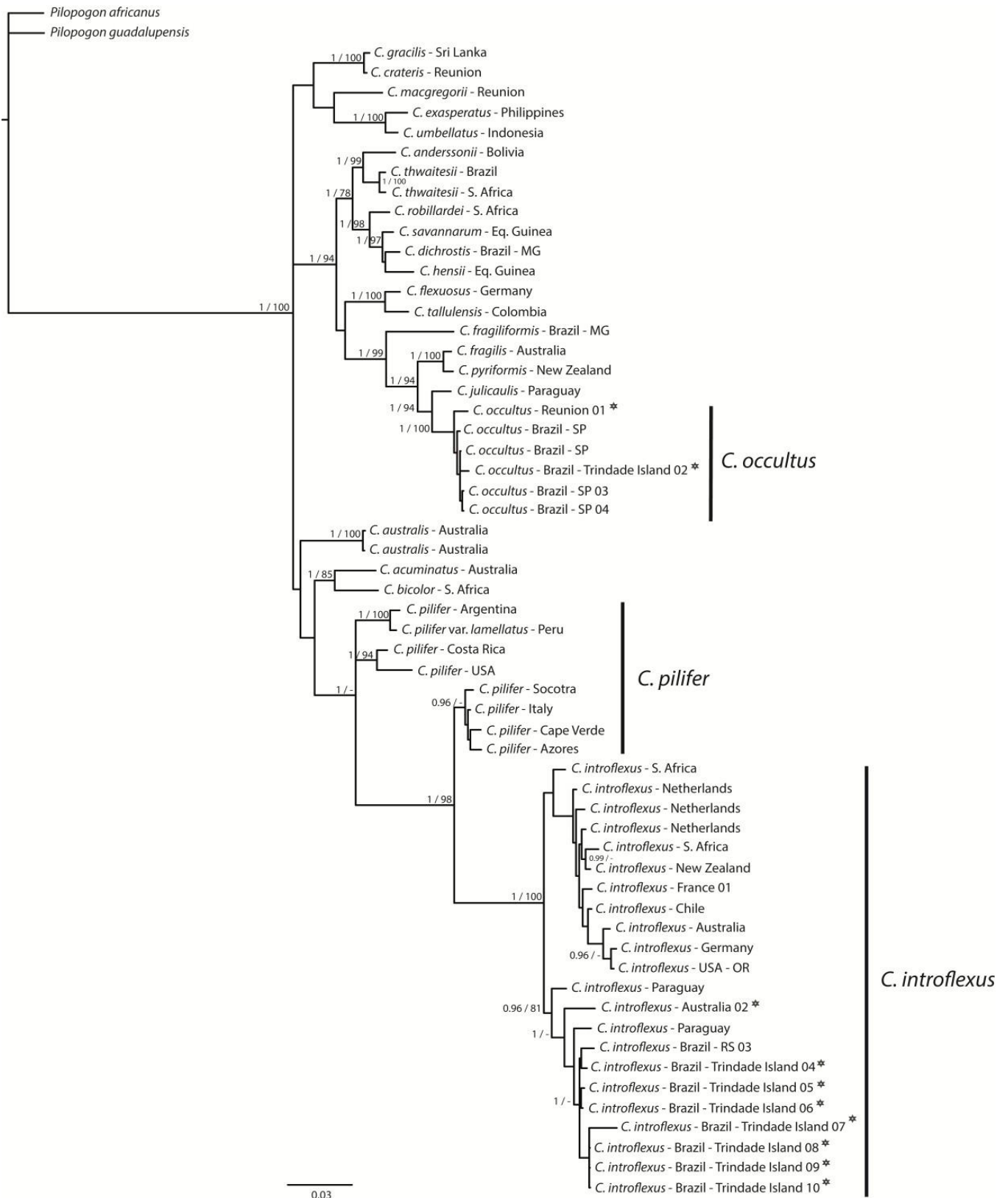


Figura 1. Filograma obtido a partir da análise Bayesiana do conjunto de dados combinado de nrITS e regiões plastídias (*atpB-rbcL*, *atpI-atpH*, *trnL-trnF*) codificado com "simple indel coding". Números nos ramos são probabilidades posteriores de análise Bayesiana (apenas valores ≥ 0.95 são mostrados) e bootstrap para análise de verossimilhança (apenas valores *acima de $\geq 75\%$ são mostrados) O símbolo "*" indica as espécimes que foram originalmente identificadas como pertencentes a uma espécie diferente (identificações originais ver Tabela 1).

Discussão

As inferências filogenéticas à partir de seqüências de DNA são consistentes com o reconhecimento de duas espécies de *Campylopus* na Ilha da Trindade. No entanto, em ambos os casos, a identificação original dos espécimes amostrados não se encaixava com a sua posição filogenética. Em contraste com o que foi anteriormente reconhecido (Faria et al. 2012), os espécimes identificados como *C. pilifer* da Ilha da Trindade pertencem à *C. introflexus*, e aqueles determinados como *C. fragilis* sub. *fragilliformis* pertencem à espécie *C. occultus*.

Campylopus pilifer normalmente tem lamelas na porção dorsal da costa que são de três a sete células longas terminando com ápice hialino reto. Em contraste, as lamelas da costa de *C. introflexus* são menores e possuem duas células com ápice hialino, quando presente é fortemente recurvados (cerca de 90 °). Em *C. pilifer* var. *brevirameus*, as lamelas da costa se assemelham aos da espécie *C. introflexus*, com 2-3 células na porção terminalo, no entanto, os ápices hialinos estão sempre em linha reta, e com base em dados de DNA, tais plantas são claramente resolvidas como *C. pilifer* (Frahm & Stech 2006). Uma investigação morfológica cuidadosa mostrou que os espécimes de Trindade molecularmente identificados como *C. pilifer* exibem características de *C. introflexus* reconhecidas no continente: lamelas na costa não mais do que duas células e ápice hialinos recurvados. No entanto, em alguns filídios do gametófito, dentro de certo tufos faltava o ápice hialino, o que pode ser devido a fatores tais como microclima e diferentes graus de exposição à luz. Quando comparado com *C. pilifer*, os espécimes de Trindade são notavelmente menores, justificando a possível confusão com espécimes jovens de *C. pilifer*.

A área de distribuição natural de *C. introflexus* está entre as faixas da Antártica (acima de 60° Sul) a região subtropical da América do Sul, África do sul, incluindo ilhas do Atlântico norte passando por St. Helena, Austrália e Nova Zelândia (Stech & Dohrmann 2004; Klinck 2010). Embora o mapa de distribuição de Klinck (2010) inclua o sul do Brasil como parte da área de distribuição de *C. introflexus*, a espécie não consta na última lista de verificação das briófitas do Brasil (Costa et al. 2011). Os presentes dados, no entanto, confirmam que *C. introflexus* ocorre tanto no Brasil (continente) como na Ilha da Trindade. Ambas as áreas estão dentro da distribuição natural de *C. pilifer* (Stech & Dohrmann 2004), mas o seu limite ao norte provavelmente contribuiu para o equívoco de *C. introflexus* no Brasil, e em

particular na Ilha da Trindade.

A espécie *C. introflexus* encontrada na Ilha de Trindade forma um clado bem suportado em conjunto com uma amostra do sul do Brasil continental, com as quais compartilham sequências de DNA praticamente idênticas (diferença inferior a 0,5%). Isto sugere que as populações da ilha poderiam ter se originado a partir de um ancestral continental sul-americano. Enquanto o sul do Brasil continental mostra um clima adequado para *C. introflexus*, com clima temperado totalmente úmido e verões amenos (tipo "Cf" na classificação climática de Köppen-Geiger; Kottek et al. 2006), Trindade tem clima mais árido. No entanto, as espécies de *Campylopus* possivelmente se beneficiaram do impacto humano sobre Trindade, sendo que *C. introflexus* está adaptada tanto a ambientes perturbados como a ambientes naturais (Hassel & Söderström 2005; Hasse 2007; Sparrius & Kooijman 2011; Carter 2014). As condições ecológicas em conjunto com a variação morfológica e molecular dentro *C. introflexus* na ilha, sugerem que a espécie pode ter colonizado Trindade em um único evento recente. No entanto, mais dados incluindo uma filogenia datada é necessária a fim de testar esta hipótese.

Os espécimes identificados molecularmente como *C. occultus* são morfológicamente idênticos por uma combinação de caracteres incluindo células hialinas e ausência de células alares infladas, quadráticas a oblongas, células laminares basais da margem oblongas, costa ocupando $\frac{1}{3}$ da largura do filídio, mostrando uma margem revoluta em corte transversal, com hialocistos e estereódeos dorsais e ventrais. Por outro lado, *C. fragiliformis* apresenta células alares hialinas infladas e células basais hialinas estendendo até a metade do filídio, células laminares retangulares acima das células alares ocupando $\frac{2}{3}$ a $\frac{1}{2}$ da largura do filídio e com uma superfície dorsal lisa em secção transversal. Ainda, *C. occultus* é frequentemente encontrada formando tufos, diferente da espécie *C. fragiliformis*.

Campylopus occultus era previamente restrita ao sudeste do Brasil, Uruguai, Paraguai e norte da Argentina. Sua distribuição é aqui revista e ampliada até o leste da Ilha da Trindade e da Ilha Réunion no Oceano Índico. Frahm & Stech (2006) e Stech et al. (2010) apresentam uma distribuição disjunta semelhante com *C. pilifer*, incluindo Réunion e no clado Novo Mundo. Se este padrão é causado pela dispersão de longa distância dos Neotrópicos à ilha da Réunion ou por introdução humana na história recente (últimos 500 anos) precisa ser investigado. Da mesma forma, a origem geográfica exata das

populações de *C. occultus* encontradas na Ilha de Trindade precisa ser inferida a partir de amostragens mais extensas em toda a sua distribuição Sul americana continental.

O presente estudo enfatiza a necessidade de estudos de revisão morfomolecular mais abrangente, a fim de resolver problemas taxonômicos e incongruências nas delimitações das espécies, facilitando a identificação das espécies mais complexas como o gênero *Campylopus*. *Campylopus introflexus* e *C. pilifer* demonstraram como a reavaliação da variação morfológica e molecular intraespecífica pode esclarecer a distribuição natural e indicar onde investigações mais detalhadas são necessárias.

Agradecimentos: Agradecemos aos curadores dos herbários BM, HUCS, MO, PC, S, SP, UB pelo empréstimo de material e CAPES pelo o financiamento do doutorado. Um agradecimento especial devido ao CNPq pelo financiamento e a Marinha do Brasil (PROTRINDADE) pelo apoio logístico para realização do trabalho de campo na Ilha da Trindade durante os meses do projeto.

Referências

- Carter, B. E. 2014. Ecology and distribution of the introduced moss *Campylopus introflexus* (Dicranaceae) in western North America. *Madroño* 61: 82-86.
- Costa, D. P., Pôrto, K. C., Luiz-Ponzo, A. P., Ilkiu-Borges, A. L., Bastos, C. J. P., Câmara, P. E. A. S., Peralta, D. F., Bôas-Bastos, S. B. V., Imbassahy, C. A. A., Henriques, D. K., Gomes, H. C. S., Rocha, L. M., Santos, N. D., Siviero, T. S., Vaz-Imbassahy, T. F. & Churchill, S. P., 2011. Synopsis of the Brazilian moss flora: checklist, distribution and conservation. *Nova Hedwigia* 93: 277-334.
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallor, R. & Posada, D., 2012. JModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* 9: 772.
- Draper, I., Hedenäs, L., Stech, M., Patiño, J., Werner, O., González-Mancebo, J. M., Sim-Sim, M., Lopes, T. & Ros, R. M., 2015. How many species of *Isoetecium* (Lembophyllaceae, Bryophyta) are there in Macaronesia? A survey using integrative taxonomy. *Botanical Journal of the Linnean Society* 177: 418-438.
- Faria, A. L. A., Carvalho-Silva, M., Costa, D. P. & Câmara, P. E. A. S. 2012. The bryophytes of Trindade Island, South Atlantic, Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 26: 783-793.
- Frahm, J.-P. 1979. Die *Campylopus*-Arten Brasiliens. *Revue Bryologique et Lichénologique* 45: 127-178.
- Frahm, J.-P. 1980. Synopsis of the genus *Campylopus* in North America north of Mexico. *The Bryologist* 83: 570-588.
- Frahm, J.-P. 1984. Phytogeography of European *Campylopus* species. Proceedings of the III. Meeting of Bryologists from Central and East Europe, pp. 191-212. Prague.
- Frahm, J.-P. 1987. A revised list of the *Campylopus* species of the world. *Bryologische Beiträge* 7: 1-117.
- Frahm, J.-P. 1988. The subantarctic and southern hemispheric species of *Campylopus* (Dicranaceae), with contributions to the origin and speciation of the genus. *Journal of*

the Hattori Botanical Laboratory 64: 367–388.

- Frahm, J.-P. 1990. *Campylopus*, a modern and successful genus? *Tropical Bryology* 2: 91-101. FRAHM J.-P., 1991 – *Campyloporoideae*, *Paraleucobryoideae*. *Flora Neotropica Monographs* 54:1-238.
- Frahm, J.-P. & Stech, M., 2006. The taxonomic status of intermediate forms of *Campylopus introflexus* (Hedw.) Brid. and *C. pilifer* Brid. (Dicranaceae, Bryopsida) newly discovered in Europe. *Cryptogamie, Bryologie* 27: 213-223.
- Gama, R., Stech, M., Schäfer-Verwimp, A. & Peralta, D. F. 2015. A morpho-molecular revision of *Leucoloma* (Dicranaceae, Bryophyta) in Brazil. *Nova Hedwigia* 100: 319-332.
- Guindon, S. & Gascuel, O. 2003. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood. *Systematic Biology* 52: 696-704.
- Hasse, T. 2007. *Campylopus introflexus* invasion in a dune grassland: Succession, disturbance and relevance of existing plant invader concepts. *Herzogia* 20: 305-315.
- Hassel, K. & Söderström, L. 2005. The expansion of the neophytes *Orthodontium lineare* and *Campylopus introflexus* in Britain and continental Europe. *Journal of the Hattori Botanical Laboratory* 97: 183-193.
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. & Miyata, T. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research* 30: 3059-3066.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Mentjies, P. & Drummond, A., 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28: 1647-1649.
- Klinck, J., 2010. *NOBANIS – Invasive Alien Species Fact Sheet – Campylopus introflexus*. Online Database of the European Network on Invasive Alien Species, www.nobanis.org. Date of access 1/09/2015.

- Koressaar, T. & Remm, M. 2007. Enhancements and modifications of primer design program Primer3. *Bioinformatics* 23: 1289-1291.
- Kottek, M., Grieser, J., Beck, C., Rudolf, B. & Rubel, F. 2006. World Map of the Köppen- Geiger climate classification updated. *Meteorologische Zeitschrift* 15: 259-263.
- Laenen, B., Désamoré, A., Devos, N., Shaw, A. J., González-Mancebo, J. M., Carine, M. A. & Vanderpoorten, A. 2011. Macaronesia: a source of hidden genetic diversity for post-glacial recolonization of Western Europe in the leafy liverwort *Radula lindenbergiana*. *Journal of Biogeography* 38: 631-639.
- Miller, M. A., Pfeiffer, W. & Schwartz, T. 2010. *Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees*. Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), New Orleans, LA, pp. 1-8.
- Müller, K. 2004. SeqState - primer design and sequence statistics for phylogenetic DNA data sets. *Applied Bioinformatics* 4: 65-69.
- Patiño, J., Bisang, I., Hedeñas, L., Dirkse, G., Bjarnason, Á. H., Ah-Peng, C. & Vanderpoorten, A. 2013a. Baker's law and the island syndromes in bryophytes. *Journal of Ecology* 101: 1245-1255.
- Patiño, J., Carine, M., Fernández-Palacios, J. M., Otto, R., Schaefer, H. & Vanderpoorten, A. 2013b. The anagenetic world of spore-producing land plants. *New Phytologist* 201: 305-311.
- Ronquist, F., Teslenko, M., Mark, P. V. D., Ayres, D. L., Darling, A., Höhna, S., Larget, T. B., Liu, L., Suchard, M. A. & Huelsenbeck, J. P. 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61(3): 539-542.
- Serafini, T.Z., França, G. B. & Andriquetoo-Filho, J. M., 2010. Ilhas oceânicas brasileiras: biodiversidade conhecida e sua relação com o histórico de uso e ocupação humana. *Journal of Integrated Coastal Zone Management* 10: 281-301.
- Silva, N. G. & Alves, R. J. V. 2011. The eradication of feral goats and its impact on plant

- biodiversity – a milestone in the history of Trindade Island, Brazil. *Rodriguésia* 62: 717-719.
- Silvestro, D. & Michalak, I. 2012. RaxmlGUI: a graphical front-end for RaxML. *Organisms Diversity and Evolution* 12: 335-337.
- Sim-Sim, M., Esquivel, M. G., Fontinha, S. & Stech, M. 2005. The genus *Plagiochila* (Plagiochilaceae, Hepaticophytina) in Madeira Island: Molecular relationships, ecology, and biogeographic affinities. *Nova Hedwigia* 81: 449-462.
- Simmons, M. P. & Ochoterena, H. 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. *Systematic Biology* 49: 369-381.
- Sparrius, L. & Kooijman, A. M. 2011. Invasiveness of *Campylopus introflexus* in drift sands depends on nitrogen deposition and soil organic matter. *Applied Vegetation Science* 14: 221-229.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30: 1312-1313.
- Stech, M. 2004. Supraspecific circumscription and classification of *Campylopus* (Dicranaceae, Bryopsida) based on inferences from sequence data. *Systematic Botany* 29: 817-824.
- Stech, M. & Dohrmann, J. 2004. Molecular relationships and biogeography of two Gondwanan *Campylopus* species, *C. pilifer* and *C. introflexus* (Dicranaceae). In: Goffinet, B. Hollowell, V. & Magill, R. (eds.) *Molecular systematics of bryophytes. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 98: 415-431.
- Stech, M. & Wagner, D. 2005. Molecular relationships, biogeography, and evolution of Gondwanan *Campylopus* species (Dicranaceae, Bryopsida). *Taxon* 54: 377-382.
- Stech, M., Sim-Sim, M. & Frahm, J.-P. 2007. *Campylopus* (Leucobryaceae, Bryopsida) on Madeira Island - Molecular relationships and biogeographic affinities. *Nova Hedwigia* 131: 91-100.

Stech, M., Sim-Sim, M. & Kruijer, J. D. 2010. *Campylopus* Brid. (Leucobryaceae) in Macaronesia revisited. *Tropical Bryology* 31: 154-163.

Stech, M., Sim-Sim, M., Esquível, M. G., Fontinhas, S., Tangney, R., Lobo, C., Gabriel, R. & Quandt, D. 2008. Explaining the 'anomalous' distribution of *Echinodium* Jur. (Bryopsida): independent evolution in Macaronesia and Australasia. *Organisms Diversity and Evolution* 8: 282–292.

Capítulo 2

A *Cyathea* da Ilha da Trindade é um caso de endemismo? Uma abordagem filogenética e morfológica

Resumo - *Cyathea* Sm. é o único gênero de Cyatheaceae que ocorre na Ilha da Trindade, uma ilha oceânica situada no Oceano Atlântico Sul cerca de 1.100 km do continente brasileiro. A espécie *Cyathea copelandii* Kuhn & Luerssen da ilha era tida como espécie endêmica, porém em 1971 foi sinonimizada com *Cyathea delgadii* Sterb. do continente. A espécie insular possui pequenas diferenças morfológicas no indúcio e indumento, no entanto, essas distinções morfológicas que ocorrem nos táxons têm sido consideradas insignificantes ao nível de endemismo. As inferências filogenéticas de três marcadores plastídiais junto com as análises morfométricas, observações dos esporos em microscopia eletrônica de varredura e características morfológicas mostram que são consistentes com o reconhecimento de uma única espécie, porém, entre as populações do litoral incluindo a ilha da Trindade e as do interior do Brasil existem variações quanto as diferenças morfológicas e genéticas.

Palavras chave: *Cyathea copelandii*, espécie insular, Oceano Atlântico Sul

Introdução

Cyatheaceae compreende as samambaias Monilophytas escamosas, formada por uma linhagem monofilética que surgiu no início da diversificação de fetos leptosporangiados durante a era Mesozóica, entre o período Jurássico e início do Cretáceo (Conant et al. 1995, 1996; Hasebe et al. 1995; Pryer et al. 2004; Korall et al. 2006; Schuettpelz & Pryer 2007; Korall & Pryer 2014). O grupo é composto por cerca de 600 espécies, antes representado por cinco gêneros, sendo atualmente dividido em apenas três: *Alsophila* R. Br, *Cyathea* Sm. e *Sphaeropteris* Bernh. (Smith et al. 2006; Korall et al. 2007). São plantas comuns com presença de escamas e principalmente arborescentes que chegam a atingir uma altura de até 20m (Kramer 1990; Korall et al. 2006).

As características morfológicas com significado histórico na classificação de Cyatheaceae compreendem as escamas, indúsios e esporos. E de acordo com Korall et al. (2007) o estudo desses três caracteres, a família foi separada por grupos menores baseado nos estudos morfológicos e moleculares das escamas (grupo Cnemidaria; grupo Gibbosa; grupo Divergens; grupo Armata e grupo Decurrens) (Conant et al. 1996; Stein et al. 1997; Korall et al. 2007).

Esse grupo de plantas é bem representado nas floras tropicais, temperadas e subtropicais. Na região Neotropical, as áreas de maior concentração de espécies são América Central, Andes e Sudeste do Brasil (Tryon 1970; Smith et al. 2006; Korall et al., 2006; 2007).

Cyathea é um dos mais importantes gêneros de samambaias arborescentes nos trópicos, pois desempenha um importante papel nas florestas tropicais, contribuindo no abrigo de muitas espécies de epífitas, principalmente orquídeas (Moran et al. 2003). Apesar de sua importância ecológica, o uso econômico e a diversidade de algumas espécies ainda são pouco conhecidos (Lehnert 2006).

O gênero *Cyathea* inclui cerca de 150 espécies, distribuído desde o México e sul do Caribe até o norte da Argentina e tem centro de diversidade nos Andes, desde a Venezuela até o Peru (Tryon & Tryon 1982; Moran, 1995; Smith et al. 2008). O gênero habita beira de cursos d'água no interior de florestas sombreadas e ambientes abertos com solos bastante úmidos (Barrington 1978; Fernandes 2003; Alves 1998; Labiak & Matos 2009; Windisch & Santiago 2014). No Brasil, *Cyathea* tem ampla distribuição, sendo especialmente diverso na Mata Atlântica, com cerca de 35 espécies das quais 20 são endêmicas, distribuídas desde o

sul até o nordeste do Brasil e na Ilha da Trindade. Estudos filogenéticos do gênero *Cyathea* mostram clados bem suportados para a região Neotropical (Korall et al. 2006, 2007; Smith et al. 2008).

Trindade é uma ilha oceânica brasileira descoberta em 1502 pelo navegador português João da Nova e está localizada a cerca de 1100 km da cidade de Vitória (ES), nas coordenadas 20° 31' 30" S e 29° 19' 30" W . Ergueu-se há aproximadamente 3 milhões de anos por atividade vulcânica na zona abissal do Atlântico (Alves 1998). As profundidades oceânicas ao redor da ilha atingem 5800 m, e a parte emersa atinge 620 m, com área total de 9,28 km² (Alves 1998).

Em 1783, Trindade foi colonizada por 130 açorianos que após a sua retirada pelos portugueses, deixaram rebanhos de cabras e porcos (Martins & Alves 2007). Esses animais foram responsáveis pela destruição de grande parte das espécies vegetais nativas da ilha.

O clima da Ilha é do tipo tropical atlântico a semiárido com temperaturas médias mensais quase uniformes, oscilando entre 22° C e 25° C e está sob os ventos alísios do Sudeste (Barros 1950).

Cyathea é o único gênero de Cyatheaceae da Ilha da Trindade, com uma única espécie *Cyathea copelandii* Kuhn & Luer, sendo ainda a pteridófito mais abundante da ilha. A espécie é dominante na parte de altitudes mais elevadas, onde forma a floresta nebulosa de samambaias gigantes, responsável por 90% do extrato arbóreo remanescente de Trindade (Gasparini 2004). Sua atual dominância pode ter sido ocasionada por uma seleção predatória, pois essa espécie não apetecia às cabras, animais responsáveis por grande parte da destruição do ecossistema da ilha (Alves 1998). Atualmente, estima-se que ocorram cerca de 3400 indivíduos de *C. copelandii* em Trindade, que formam grandes populações nas altas encostas no lado sul da Ilha (Alves 1998).

A *C. copelandii* ocorrente na Ilha da Trindade era tida como endêmica da ilha. A espécie foi também descrita como *C. trinidadensis* por Brade (1936), no entanto Tryon (1976) sinonimizou *C. trinidadensis* e *C. copelandii* com *Cyathea delgadii* Sternb. Alves (1998) destaca que a espécie insular mesmo que tenha sido sinonimizada com seus pares do continente, possuem pequenas diferenças morfológicas no indúcio e indumento, no entanto, as distinções morfológicas que ocorrem nos táxons têm sido consideradas insignificantes ao nível de endemismo, e a sinonímia proposta por Tryon (1976) tem sido amplamente aceita (Alves 1998).

Cyathea delgadii é uma espécie de ampla distribuição que ocorre na Costa Rica, Panamá, bacia Amazônica, desde a Guiana até a Bolívia, Paraguai e nas regiões do Nordeste, Centro-Oeste, Sudeste e Sul do Brasil (Tryon 1976; Holttum & Edwards 1983; Fernandes 2003; Schmitt & Windisch, 2007). No Brasil ocorre nos estados do Acre, Amazonas, Bahia, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraíba, Paraná, Piauí, Rio Grande do Sul, Rio de Janeiro, Rondônia, Roraima, Santa Catarina e São Paulo (Flora do Brasil 2016). Cresce em baixas altitudes (30 a 300 m), nas florestas dos taludes dos morros da depressão central (Lorscheitter et al. 1999) e na encosta do Nordeste, ao longo de linhas de drenagem ou em vertentes rochosas úmidas.

Floras em ilhas oceânicas são normalmente ricas em espécies endêmicas, e podem oferecer alguns exemplos de radiação adaptativa (Baum & Shaw 1995). No entanto a composição de espécies tende a ser mais similar aos dos continentes mais próximos (Givnish & Sytsma 1997; Givnish 1998). Geralmente, as monilófitas são de especial interesse para os estudos de endemismo em floras insulares por terem esporos facilmente transportáveis pelo vento a longas distâncias com maior eficácia que as fanerógamas (Tuomisto et al. 2003; Muñoz et al. 2004).

Como nenhuma das duas espécies (*C. copelandii* e *C. delgadii*) foram amostradas nos estudos filogenéticos existentes de Cyatheaceae (Korall et al. 2007), não existe base filogenética para suportar tal sinonimização e nem o reconhecimento de ambas como espécies distintas.

O objetivo desse trabalho é realizar estudos com a espécie de *Cyathea* da Ilha da Trindade e seus pares continentais para o conhecimento de suas relações filogenéticas, bem como investigar melhor as diferenças morfológicas a fim de verificar se a variação encontrada entre as populações da ilha e as do continente refletem-se em sua diversidade genética.

Material e Métodos

Amostragem

Foram amostrados 39 táxons no total, das quais 21 foram obtidas no banco de dados (GenBank) provenientes do trabalho de Korall et al. (2007) com 3 marcadores para cada uma das 21 sequências obtidas (*trnG-trnR*; *trnL-trnF* e *rbcL-accD*). Adicionamos mais 18 amostras de *Cyathea* incluindo as espécies *C. delgadii* bem como *C. corcovadensis* (Raddi) Domin, *C. phalerata* Mart. e *C. villosa* Humb. & ex Willd. que não foram amostradas na filogenia da família (Korall et al. 2007), espécies essas que possuem uma ampla variação morfológica e geográfica. Foram coletadas amostras de *C. delgadii* de diferentes regiões da costa brasileira na Mata Atlântica, provenientes dos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e Santa Catarina, e amostras do interior do Brasil provenientes dos estados de Goiás, Minas Gerais e Distrito Federal. Para o grupo externo utilizou-se o gênero *Alsophila*, grupo irmão de Cyatheaceae segundo Korall et al. (2007).

Extração de DNA, Amplificação e Sequenciamento

O DNA do material foi extraído utilizando o protocolo de Doyle & Doyle (1987; 1990) com modificações. Para obter um DNA de melhor qualidade foram feitas extrações triplas com CTAB e lavagem dupla com SEVAG, para minimizar os compostos secundários (Borsch et al. 2003). Foram amplificadas três regiões do DNA de cloroplasto: *trnG-trnR*; *trnL-trnF* e *rbcL-accD* (Tabela 1) utilizando a técnica de Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) (Mullis & Faloona 1987). O protocolo padrão de PCR foi realizado para 50µL, contendo por amostra 26,8µL ddH₂O; 5µL a 5X de Buffer sem magnésio; 5µL a 50mM de MgCl₂; 2µL a 10mg/ml de BSA (Phoneutra); 4 µL a 1mM de dNTP; 2,5 µL (1:9) de cada primer (*Forward* e *Reverse*) e 2 µL de DNA e 0,5µL de Taq (Phoneutra).

A amplificação por PCR ocorreu em 35 ciclos. Cada ciclo formado por 30 segundos a 95°C, 45 segundos de 48 a 56°C e 1 minuto a 72°C. O ciclo inicial de 95°C tem duração de 1 minuto e a extensão final de 72°C por 5 minutos. A extração e amplificação foram feitas no Laboratório de Biologia Molecular de Plantas do Departamento de Botânica da Universidade de Brasília. A purificação e o sequenciamento foram feitos pela Macrogen Inc. (Coréia). Todas as sequências de DNA foram depositadas no GenBank.

Tabela 1: Primers e temperaturas de anelamento utilizados no estudo.

Marcador	Primer	Referência	Temp. de Anelamento
<i>rbcL-accD</i>	RBCL1187Fa	Koral et al. 2007	50-52
<i>rbcL-accD</i>	ACCD887R	Koral et al. 2007	50-52
trnGR	TRNG1Fa	Nagalingum et al. 2007	50-52
TrnGR	TRNR22Ra	Nagalingum et al., 2007	50-52
TrnLF	TRNLCa	Taberlet et al. 1991	55-57
TrnLF	TRNLD	Taberlet et al. 1991	55-57
TrnLF	TRNLE	Taberlet et al. 1991	55-57
TrnLF	TRNFFa	Taberlet et al. 1991	55-57

Tabela 2: lista todos os táxons utilizados neste estudo, com o respectivo voucher de todas as espécies, com coletor e número de coleta, herbário e localidade.

Espécie	Voucher	Origem
<i>Cyathea delgadii</i> Sternb.	Carvalho-Silva, 1788 (UB)	Ilha da Trindade
<i>C. delgadii</i>	Carvalho-Silva, 1789 (UB)	Ilha da Trindade
<i>C. delgadii</i>	Carvalho-Silva, 1790 (UB)	Ilha da Trindade
<i>C. delgadii</i>	Carvalho-Silva, 1792 (UB)	Ilha da Trindade
<i>C. delgadii</i>	Carvalho-Silva, 1906 (UB)	Goiás
<i>C. delgadii</i>	Faria, 1000 (UB)	Espírito Santo
<i>C. delgadii</i>	Faria, 1058 (UB)	Minas Gerais
<i>C. delgadii</i>	Gaspar, 3106 (BHCB)	Santa Catarina
<i>C. delgadii</i>	Carvalho-Silva, 1146 (UB)	Goiás
<i>C. delgadii</i>	Almeida, 3381 (BHCB)	Serra do Caparaó
<i>C. delgadii</i>	Faria, 1062 (UB)	Rio de Janeiro
<i>C. delgadii</i>	Faria, 1076a (UB)	Rio Grande do Sul
<i>C. delgadii</i>	Pereira, 202 (UB)	Distrito Federal
<i>C. phalerata</i>	Carvalho-Silva 1969 (UB)	Serra dos Orgãos
<i>C. phalerata</i>	Faria, 882 (UB)	Bahia
<i>C. vilosa</i>	Salino, 15695 (BHCB)	Serra do Caraça
<i>C. corcovadenis</i>	Salino, 15687 (BHCB)	Serra do Caraça

Reconstrução filogenética

As sequências foram alinhadas com o uso do MAFFT (Kato et al. 2002) embutido no software Geneious R8 (Kearse et al. 2012), e ajustadas manualmente. Os gaps foram tratados como informativo com o Simple Indel Coding (SIC) (Simmons & Ochoterena 2000) usando SeqState (Müller 2004).

As análises filogenéticas por Máxima Parcimônia (MP) foram realizadas no PAUP* 4.0 (Swofford 2003). Buscas heurísticas foram feitas com 1.000 repetições, com um máximo de 10.000 árvores salvas. Todos os caracteres foram igualmente ponderados. O suporte para os ramos foi feito através de bootstrap não paramétrico com 1000 replicações (Felsenstein 1985).

As análises de Máxima Verossimilhança (ML) foram feitas com uso do RaxML v7.4.2 (Stamatakis 2006) v.1.3 raxmlGUI (Silvestro & Michalak 2012) através do Cipres Science Gateway- Cyberinfrastructure for Phylogenetic Research (www.phylo.org) e o suporte dos cladogramas foi obtido através de bootstrap não paramétrico com 1.000 replicações.

Análise Bayesiana (BI) foi executada com Mr.Bayes v3.2.6 (Ronquist & Huelsenbeck 2012) no CIPRES Science Gateway (Miller et al. 2010). Quatro cadeias de Monte Carlo (MCMC) foram corridas por 5.000.000 gerações, amostradas a cada 1.000 gerações, em duas corridas paralelas. A convergência foi estabelecida garantindo que o desvio padrão médio da frequência de separação fosse $<0,01$. Além disso, o software Tracer 1,5 (Rambaut e Drummond 2013) foi usado para determinar quando a árvore se estabilizou. As primeiras 25% das árvores foram descartadas como "burn-in". A árvore de consenso foi construída a partir das árvores resultantes para estimar as probabilidades posteriores.

Análises foram feitas primeiro usando cada marcador separadamente e, em seguida, com uma matriz concatenada. O melhor modelo de evolução foi obtido usando JModeltest 2.1.1 (Darriba et al. 2012). Para a matriz combinada, um único modelo foi utilizado para os dados combinados. O GTR+ foi o modelo evolutivo selecionado através do software JModeltest 2.1.1 (Guindon & Gascuel 2003; Darriba et al. 2012). Para a reconstrução de caracteres evolutivos foi usado o programa Mesquite (Maddison & Maddison 2015).

Análise morfológica

Foram feitas ainda observações com o uso de microscopia eletrônica de varredura (MEV) a fim de examinar os caracteres morfológicos identificados taxonomicamente como importantes nos tratamentos sistemáticos anteriores do grupo, tal como esporângio, esporo e indúcio (Holtum, 1963; Tryon 1970; Gastony, 1973; Tryon & Feldman 1975; Holtum e Edwards, 1983; Lellinger, 1987; Conant et al. 1996). O material foi montado em “stubs” e cobertos com platina, utilizando o metalizador LEICA EM SCD 500. Com os esporos foi feita uma seleção sob lupa e dispersou-os aleatoriamente sobre uma fita adesiva. Este procedimento permite que sejam efetuadas análises em várias orientações do material (Castro 2001). As amostras foram observadas e micrografadas utilizando JSM – 7001F no Laboratório de Microscopia Eletrônica da Universidade de Brasília (DF).

Reconstrução de caracteres

Para a reconstrução de caracteres, foram selecionados caracteres como tricomas, escamas e espinhos, pois são de grande importância taxonômica na classificação dos táxons em análise. As características foram mapeadas na filogenia a fim de analisar os estados de caracteres das espécies basais, com o objetivo de entender os padrões de evolução morfológica das espécies em questão, buscando possíveis relações entre caracteres e aspectos ecológicos e/ou biogeográficos no grupo. Essa reconstrução foi feita com o uso do software Mesquite 2.72 (Maddison & Maddison 2015), sob o critério de verossimilhança.

Resultados

a) Filogenia - As árvores com os marcadores individuais diferiam apenas no grau de resolução. Os conflitos, quando presentes ocorreram apenas em nós com baixo suporte. Assim sendo foram consideradas congruentes e agrupadas em uma matriz concatenada. O alinhamento *trnL-trnF*, *trnG-trnR* e *rbcL-accD* concatenado foi composto de 3.603 pares de bases. No entanto as posições 688 - 956 (*trnL-trnF*) e 2.340 - 2.759 (*trnG-trnR*) foram excluídas na análise pois apresentaram regiões de homopolímero (regiões comumente de 10 a 15 paras de base com apenas um dos quatro nucleotídeos).

Dos 2.266 pares de bases analisados, 1.933 pb apresentaram caracteres constantes, 192 caracteres variáveis e 141 caracteres de *parsimony informative*. Simple Indel Coding

resultou em 56 adicionais caracteres informativos. No total, 38 táxons foram usados, dos quais 36 foram sequências de grupo interno e dois do grupo externo.

As reconstruções filogenéticas resultantes dos três marcadores concatenados (Figura1) evidenciaram que tanto *C. delgadii* do continente quanto a *Cyathea* da ilha pertencem ao grupo Divergens (Korall et al. 2007) com um suporte no valor de 67 de bootstrap em máxima parsimônia (MP), 85 em máxima verosimilhança (ML) e 0.99 de probabilidade posterior (BI). No entanto, em *C. delgadii* existem dois clados distintos aqui chamados de A e B. Esses clados são caracterizados por possuírem indúcio do tipo *Sphaeropteroid* e esporos com verrugas, sendo característica morfológica exclusiva desse grupo (A e B) (Holtuum 1963, Korall et al. 2007). O clado A, bem suportado 66 (MP), 70 (ML) e 0.99 (BI) contém os espécimes da Ilha da Trindade, bem como os espécimes de *C. delgadii* do continente oriundos dos estados do Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Serra do Caparaó (CAP), da costa do Brasil distribuídos pela Mata Atlântica.

O Clado B bem suportado com valores de 72 (MP), 85 (ML) e 1.0 (BI) incluiu táxons provenientes do interior do Brasil, com áreas compostas por vegetação florestal e de menor umidade no domínio Cerrado, mas com características morfológicas pouco distintas das espécies do clado A.

O clado C (grupo Gibbosa) apresentou valores de 70 (MP), 90 (ML) e 1.0 (BI) e incluiu as espécies *C. phalerata*, *C. corcovadensis* e *C. villosa*, táxons que até o momento não tinham sido amostrados nos estudos de filogenia de Cyatheaceae, juntamente com as espécies *C. gibbosa*, *C. senilis* e *C. multiflora*. O grupo Gibbosa inclui táxons exindusiados ou do tipo *cyatheoid*, já as duas espécies do outgroup (*A. dregei* e *A. cunninghamii*) possuem indúscios *sphaeropteroid*. Segundo Korall et al. (2007), este tipo indúscio pode ser a característica plesiomórfica para o grupo Divergens em Cyatheaceae.

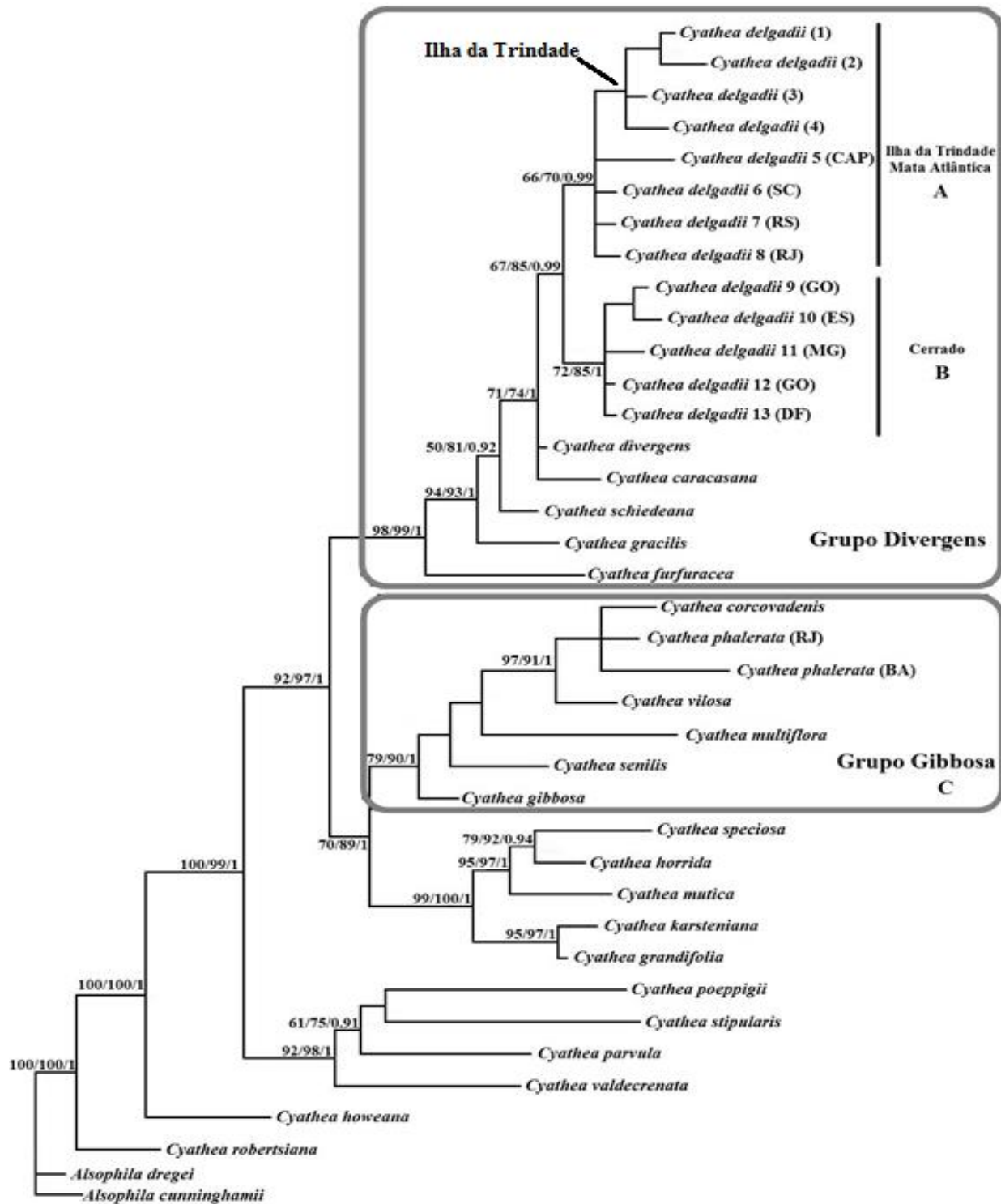


Figura 1. Filograma obtido de consenso a partir da Inferência Bayesiana do conjunto de dados combinados das regiões plastídias (*Trng-trnR*, *trnL-trnF* e *rbcL-accD*) codificado com “*simple indel coding*”. Números nos ramos são valores de bootstrap de Máxima Parcimônia (MP), Máxima Verossimilhança (MV) e Probabilidades posteriores de Inferência Bayesiana (BI) respectivamente. Apenas os valores de suporte com bootstrap $\geq 65\%$ a partir da análise de máxima parcimônia; $\geq 75\%$ para máxima verossimilhança e ≥ 0.95 para Bayesiana são mostrados no mesmo conjunto de dados.

b) Resultados Morfológicos

A *Cyathea* ocorrente na ilha apresenta cáudice arborescente, ereto, até seis metros de altura, com cicatrizes foliares planas e elípticas a rômbricas ao longo de sua extensão. As frondes apresentam lâmina cerca de 3 a 4 m de comprimento bipinado-pinatífida, com ápice gradualmente reduzido. As pinúlas dos espécimes da ilha com pouca ou nenhuma escama abaxial, nervuras moderadamente lisas e com pouco tricomas; estípes com poucos espinhos inermes, diferente dos espécimes encontrados no interior do Brasil que apresentam pinúlas e nervuras pubescentes; pecíolo geralmente castanho claro, presença de escamas caducas e estípes com espinhos muricados e soros umbonados.

O clado A apresentou características similares tais como menor quantidade de escamas nas pinas, estípes mucronados, além de poucos tricomas na raque. O clado B agrupou espécimes com características morfológicas pouco distintas das espécies do clado A, sendo que no clado B os espécimes possuem tricomas, espinhos muricados ou inermes, porém a quantidade de espinhos foi maior (Figura 2). Quanto às características reprodutivas, não houve uma diferenciação entre os dois cladogramas, nem pelo tipo de indúcio, citado em Alves (1998) e nem nos esporos. O indúcio foi considerado como um dos órgãos da planta que continha uma leve diferenciação entre continente e ilha (Alves 1998), mas insignificantes para o reconhecimento de dois táxons distintos (*C. delgadii* e *C. copelandii*), no entanto em nossos resultados não foi encontrada nenhuma diferença. Os esporos variaram quanto à quantidade e presença de “rodlets” na camada externa do esporo, porém não apresentou variação entre os cladogramas entre as amostras do continente e ilha (Figuras 3 e 4), ambos contêm esporos triletes, grandes, heteropolares, rugosos, subtriangulares a triangulares (em vista polar). Diâmetro equatorial dos esporos variando entre 30 - 50 μm , características presentes em todo o grupo Divergens.



Figura 2. Parte da árvore mostrada na figura 1, obtida por Inferência Bayesiana mostrando as diferenças morfológicas entre os dois clados. **A** (espécimes da lha e litoral) e **B** (espécimes do interior do continente). Caracteres: Espinhos; Tricomas na parte adaxial das pínulas; Escamas na parte abaxial das pínulas e tricomas no caule respectivamente. Os valores acima dos nós são as probabilidades posteriores.

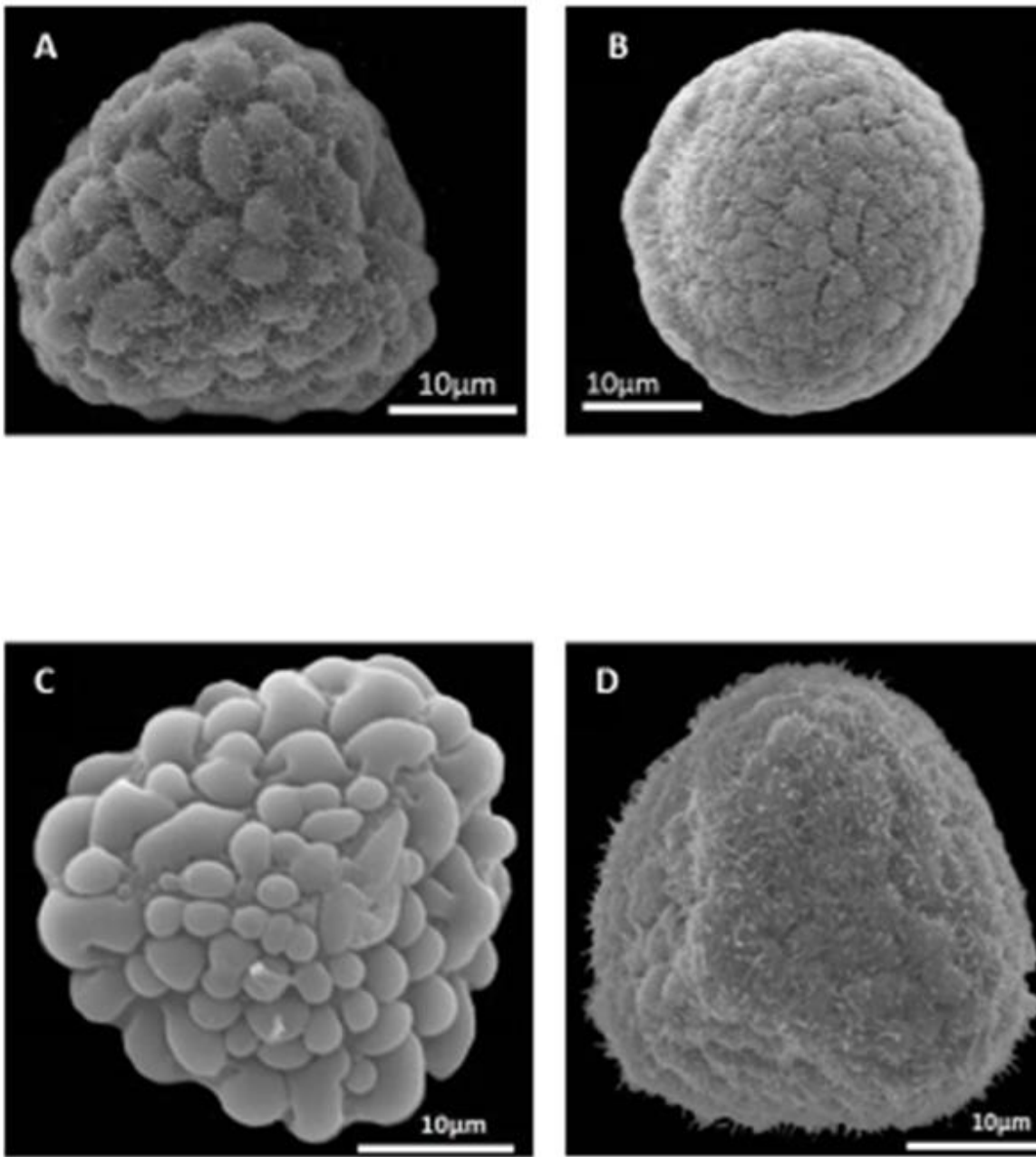


Figura 3. Esporos de *Cyathea delgadii* Sternb. em microscopia eletrônica de varredura. **A e B** (Carvalho-Silva, 1788 - Ilha da Trindade); **C e D** (Alkimim-Faria, 1062 - Floresta da Tijuca, RJ). As figuras mostram que os esporos são triletes, heteropolares, rugoso, subtriangulares a triangulares, com presença ou ausência de “rodlets” no exosporio.

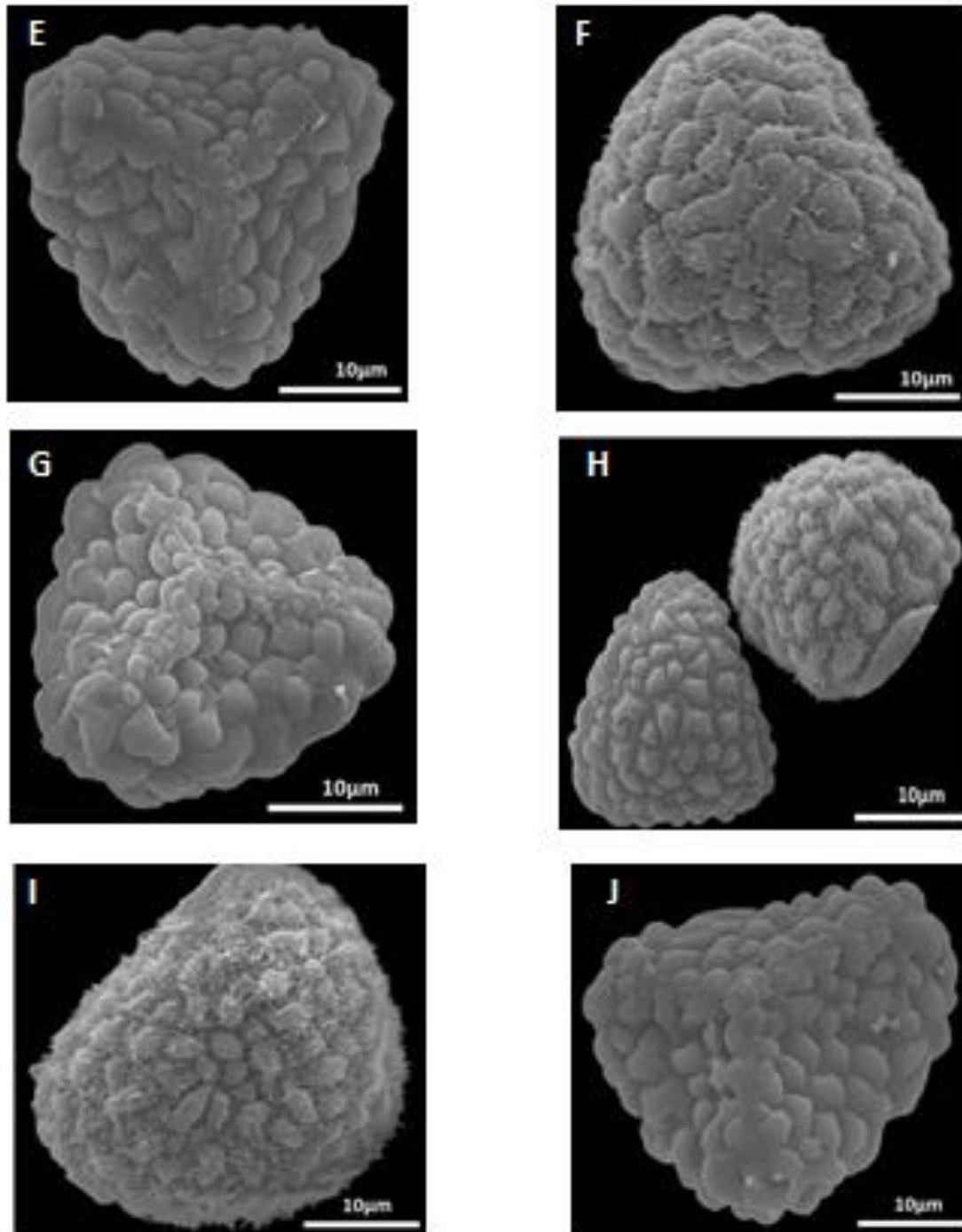


Figura 4. Esporos de *Cyathea delgadii* Sternb. em microscopia eletrônica de varredura. **E** (Gaspar & Kassner-Filho, 3106 – SC); **F** (Alkimim-Faria, 1076a – RS); **G** (Alkimim-Faria, 1058 – MG); **H** (Carvalho-Silva, 1146 – GO); **I** (Pereira, 202 – DF); **J** (Alkimim-Faria, 1000 – ES). As figuras mostram que os esporos são triletes, heteropolares, rugoso, subtriangulares a triangulares. Com presença ou ausência de “rodlets” no exosporio.

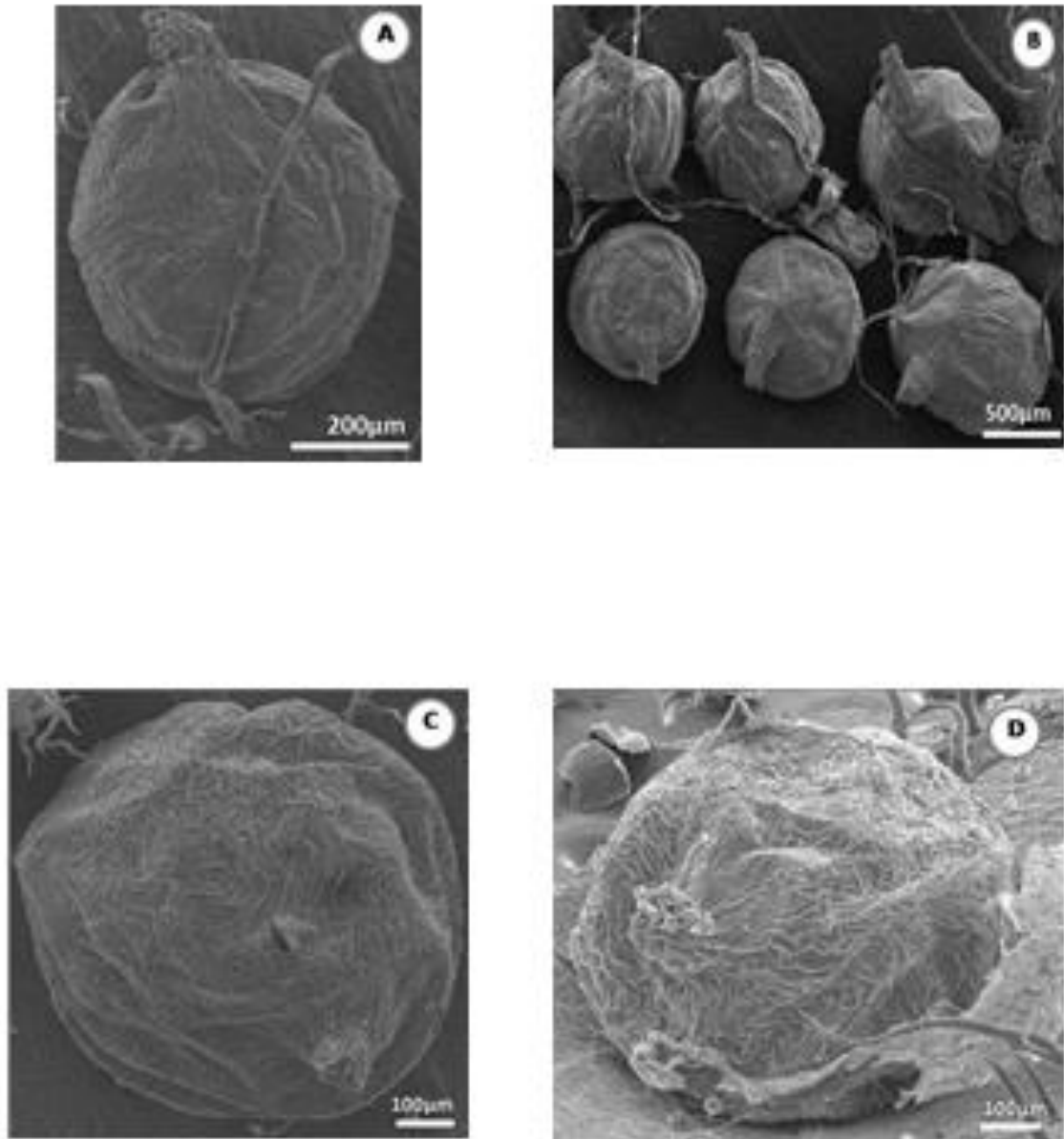


Figura 5. Indúsios de *Cyathea delgadii* Sternb. em microscopia eletrônica de varredura. **A e B** (Carvalho-Silva, 1788 - Ilha da Trindade); **C** (Pereira, 202 - DF); **D** (Carvalho-Silva, 1146 - GO). As figuras mostram os soros umbonados. Presentes tanto no continente como na ilha

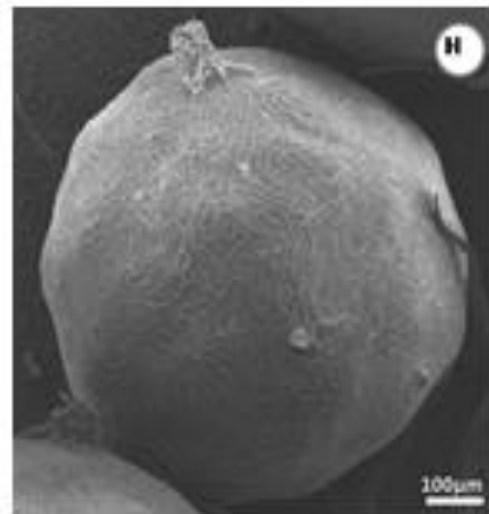
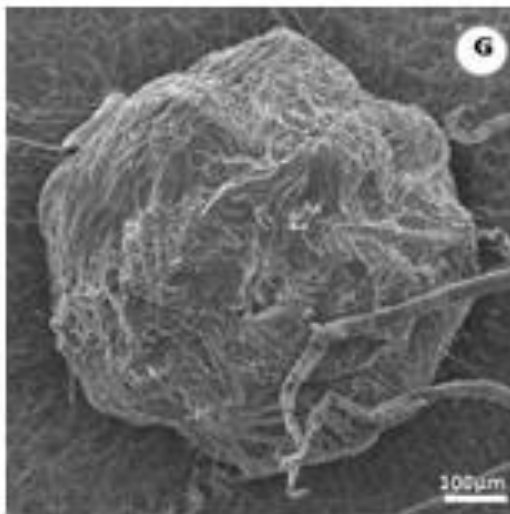
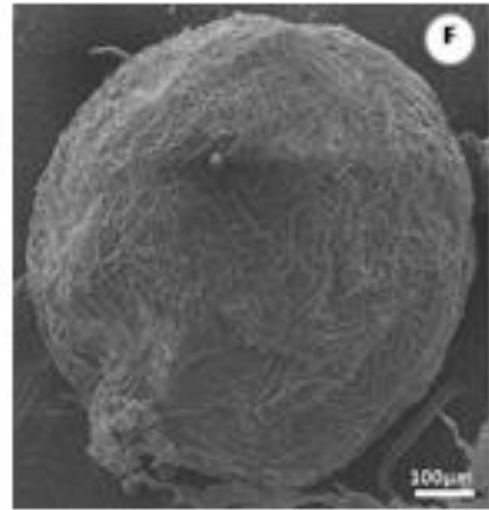
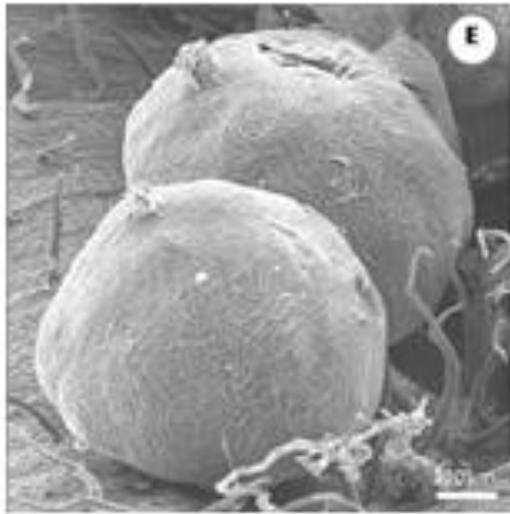


Figura 6. Indúsius de *Cyathea delgadii* Sternb. em microscopia eletrônica de varredura mostrando. **E** (Alkimim-Faria, 1058 - MG; **F** (Alkimim-Faria, 1076a - RS); **G** (Alkimim-Faria, 1000 - ES); **H** (Alkimim-Faria, 1062 - RJ). As figuras mostram os soros umbonados.

As espécies do clado C analisadas nesse estudo compartilham características genéticas e morfológicas com as espécies do Grupo Gibosa. Esse clado agrupou as espécies *C.phalerata*, *C.villosa* e *C.corcovadensis*, plantas distintas do Grupo Divergens. Essas espécies possuem frondes cartáceas, forte presença de espinhos e esporângios desprovidos de indúcio (tipo Cyatheoid).

c) Reconstrução de caracteres: De acordo com a árvore filogenética, as espécies basais escolhidas dentro do clado pertencente ao grupo de *C.delgadii* foram *C.divergens* e *C.caracasana*. Essas duas espécies foram observadas em herbários a fim de obter informações de caracteres morfológicos, e serviram de uso para o enraizamento na árvore de reconstrução de caracteres. A maioria das amostras dessas espécies apresentaram a raque desprovida de tricomas, bem como suas frondes possuidoras de menores quantidades de escamas, estipes com espinhos menores, porém finos. Tanto *C.divergens* como *C.caracasana* ocorrem na Costa Rica e República Dominicana respectivamente, possuem características mais similares às do ambiente insular, colonizando áreas de maior temperatura e umidade como o domínio Mata Atlântica. Dentre esses três caracteres usados para a reconstrução, o que melhor mostrou resultados foi o caráter de espinho, representados por círculos brancos (Figura 7). Ou seja, o caráter espinho das espécies basais foram bastantes similares aos do ambiente insular. Além disso, uma grande amostragem das plantas do continente apresentou ausência de tricomas, principalmente as amostras da região de Mata Atlântica.

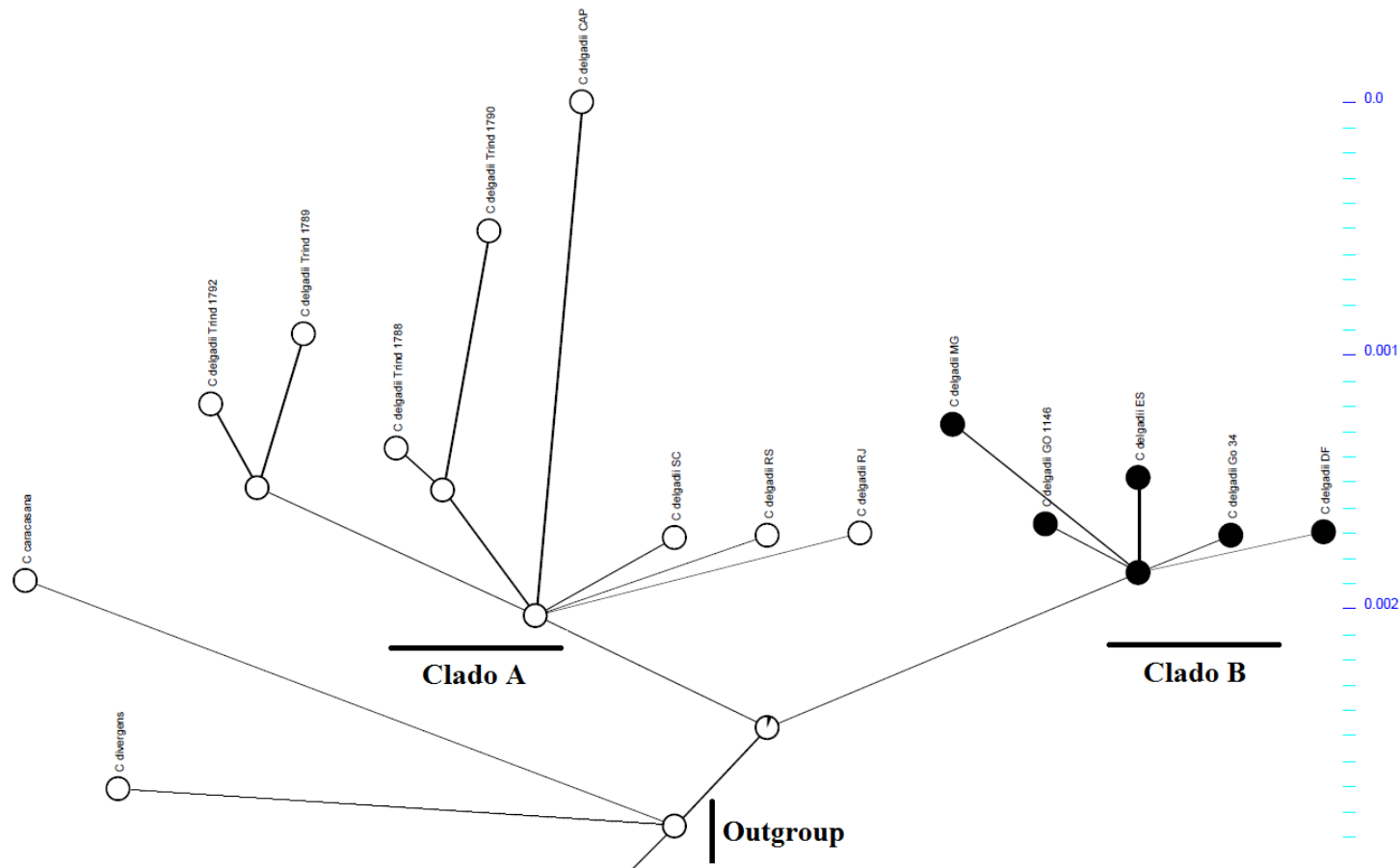


Figura 7. Reconstrução do carácter (espinho). Os círculos brancos no clado **A** representam as espécies da Ilha da Trindade e litoral do Brasil possuidoras de vestígios de espinhos. Os círculos pretos no clado **B** representam as espécies do interior do continente, possuidoras de espinhos grandes e agudos.

Discussão

Os estudos filogenéticos nesse trabalho corroboram com a sinonímia proposta por Tryon (1976). Ou seja, as evidências nesse trabalho apontam *Cyathea* da Ilha da Trindade como pertencente à mesma espécie *C. delgadii* do continente, pois as populações da ilha e do continente formam um grupo monofilético. As características morfológicas presentes são menos evidentes nas amostras, e nenhuma outra é aparente, além de habitarem áreas florestais de alta elevação (Conant et al. 1996, Korall et al. 2007). Apesar da reconstrução de caracteres nesse estudo ter mostrado que as espécies basais possuem espinhos menores, em algumas linhagens evolutivas em samambaias, não é incomum que caracteres desapareçam e reapareçam como por exemplo os indúsios das espécies do grupo *exindusiate* em *Cyatheaceae*, já observado em Korall et al. (2007).

No entanto, a diversidade genética das espécies continentais oriundas do interior do Brasil diferenciara-se das do litoral em dois clados bem suportados. Ambos os clados apresentam diferenças não apenas genéticas, mas também morfológicas tais como quantidade de tricomas na parte adaxial das pínulas; escamas na parte abaxial das pínulas e tricomas no caule. Essas diferenças foram apresentadas nos táxons de acordo com a distância da Ilha.

A modificação apresentada nas espécies de *C. delgadii* ao longo de sua história evolutiva é possivelmente oriunda de uma divergência voltada para as oportunidades ecológicas. As ilhas são fortes ambientes a proporcionarem esse tipo de fenômeno. Assim, é possível que as divergências morfológicas e ecológicas das espécies são promovidas por uma ausência de concorrentes de outros táxons, sendo mais promovida com espécies em grupos insulares mais remotos (Lack 1947; Amadon 1950). A explicação comum para esse padrão é que a divergência das espécies em novos nichos ecológicos se torna difícil quando os nichos já estão ocupados por espécies de outros táxons. Uma maior divergência na ausência de outros táxons representa, assim, menores concorrências (Schluter 1988).

A especiação em *Cyatheaceae* pode ser baseada em isolamento histórico eco geográfico e migração, fatores que geram endemias em ambientes insulares, eventualmente precedida de evolução durante a migração, mostrando que as prováveis fontes de diferenciação das samambaias escamosas são consistentes com a dissolução da Gondwana e os eventos geológicos (Korall & Pryer 2013, Ramírez-Barahona & Luna 2015).

Como exemplo, a espécie *C. divergens* var. *tuerckheimii* na Guatemala e no México, a partir de var. *divergens* em Costa Rica; *C. caracasana* var. *maxonii* da Costa Rica a partir do complexo *C. caracasana* na Colômbia; e provavelmente, *C. tenera* e *C. furfuracea* das Antilhas, para *C. delgadii* da América do Sul. As mudanças climáticas do Pleistoceno podem ter sido fundamentais na geração de migrações e disjunções que levaram à evolução destas espécies (Tryon 1970). E mesmo sendo esses dois táxons (ilha e continente) as mesmas espécies, a preservação de áreas geograficamente isolada como a Ilha da Trindade é importante, pois são regiões que estão em processos de especiações distintas de outras áreas, devido à distância da fonte.

O padrão das espécies entre as duas regiões geográficas em estudo (ilha - continente) sugere que a vegetação da Ilha da Trindade segue os padrões de dispersão a longa distância (LDD) citados por Muñoz et al. (2004), com diásporos oriundos do continente sul-americano em direção a África chegando em Trindade.

A LDD é definida como transporte passivo pelo vento, tempestades ou fluxos de água (Bullock et al. 2002), invocada para explicar semelhanças bióticas entre massas distantes. O vento é um veículo de dispersão para muitos organismos no hemisfério sul e a principal condução de distribuição de plantas na terra, sendo um mecanismo que pode levar a uma diferenciação geográfica nas espécies de samambaias (Barrington 1993; Brownsey 2001; Dassler e Farrar 1999; Gradstein e Van Zanten 1999; Kato 1993; Moran e Smith 1999; Wolf et al. 2001; Oliver 1925; Winkworth 2002; Tuomisto et al. 2003).

A importância da LDD em samambaias prevê que a distribuição de espécies estaria intimamente ligada à distribuição de climas favoráveis (Wild & Gagnon, 2005; Shepherd et al. 2009). A alta capacidade de produção de esporos em samambaias resulta em uma melhor dispersão em regiões isoladas, e a diferenciação entre espécies nessas regiões ocorre quando existem diferenças ambientais ou quando existe uma descontinuidade de habitat (Guo et al. 2003).

Referências

- Alves, R. J. V. 1998. Ilha da Trindade e Arquipélago Martin Vaz - Um Ensaio Geobotânico. Serviço de Documentação, Marinha do Brasil; 144 pp., Diretoria de Hidrografia e Navegação, Niterói, RJ.
- Amadon, D. 1950. The Hawaiian honeycreepers (Aves, Drepaniidae). Bulletin of the American Museum of Natural History 95: 151-262.
- Barrington, D. S. 1978. A revision of the genus *Trichipteris*. Contributions from the Gray Herbarium 208: 1-93.
- Barrington, D. S. 1993. Ecological and historical factors in fern biogeography. Journal of Biogeography 20: 275-280.
- Barros, J. A. L. 1950. Relatório prévio sobre a expedição João Alberto à Ilha da Trindade. 275 pp. datil. ined., Rio de Janeiro.
- Baum, D. A. & Shaw, K.L. 1995. Genealogical perspective on the species problem, pp. 269 – 303. In P. C. Hoch and A. G. Stephenson, eds. Experimental and molecular approaches to plant biosystematics. Missouri Botanical Garden, St. Louis, Missouri.
- Borsch, T., Hilu, K. W., Quandt, D., Wilde, V., Neinhuis, C., Barthlott, W. 2003. Noncoding plastid trnT-trnF sequences reveal a well resolved phylogeny of basal angiosperms. Journal of Evolutionary Biology 16(4): 558-576.
- Brade, A. C. 1936. Filicineas da Ilha da Trindade. in: Brade A. C. : Filices Novae Brasilianae V.- Arch. Instituto de Biologia Vegetal 3(1): 1-18.
- Brownsey, P. J. 2001. New Zealand's pteridophyte flora – plants of ancient lineage but recent arrival? Brittonia 53: 284-303.
- Bullock, J. M., Kenward, R. E. & Hails, R. 2002. Dispersal Ecology. Blackwell Science, Oxford.
- Castro, L. A. S. 2001. Processamento de amostras para microscopia eletrônica de varredura / Luis Antônio Suita de Castro. - Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 37p. - (Embrapa

Clima Temperado. Documentos, 93).

- Conant, D. S., Raubeson, L. A., Attwood, D. K. & Stein, D.B. 1995. The relationships of Papuan Cyatheaceae to New World tree ferns. *American Fern Journal* 85: 328-340.
- Conant, D. S., L. A. Raubeson, D. K. Attwood, S. Perera, E. A. Zimmer, J. A. Sweere, and D. B. Stein. 1996. Phylogenetic and evolutionary implications of combined analysis of DNA and morphology in the Cyatheaceae. In J. M. Camus, M. Gibby, and R. J. Johns [eds.], *Pteridology in perspective* 231-248. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- Darriba, D., Taboada, G.L., Doallo, R. & Posada, D. 2012. JModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods*. 9: 772.
- Dassler, C. & Farrar, D. R. 1999. Significance of gametophyte form in long-distance colonization of islands by tropical, epiphytic ferns. XVI International Botanical Congress. Abstract 15.4.7.
- Doyle, J. J. & Doyle, J. L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin* 19: 11-15.
- Doyle, J.J. & Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus* 12: 13-15.
- Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 779-783.
- Fernandes, I. 2003. Taxonomia dos representantes de Cyatheaceae do nordeste oriental do Brasil. *Pesquisas, Botânica* 53: 7-53.
- Flora do Brasil. jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB90875>. Acesso em 15 Jul. 2016.
- Gasparini, J. L. 2004. Ilha da Trindade e Arquipélago Martin Vaz: pedaços de Vitória no azul atlântico. Vitória, GSA, 100p.
- Gastony, G. 1973. A revision of the fern genus *Nephelea*. *Contributions from the Gray Herbarium* 203: 81-148.
- Givnish, T. J. & Sytsma, K. J. 1997. Homoplasy in molecular vs. morphological data: the

likelihood of correct phylogenetic inference, pp. 55–101. In T. J. Givnish and K. J. Sytsma [eds.], *Molecular evolution and adaptive radiation*. Cambridge University Press, New York, USA

Givnish, T. J. 1998. Adaptive plant evolution on islands: classical patterns, molecular data, new islands. *Evolution on Islands* (ed. P.R. Grant), pp. 281-304. Oxford University Press, Oxford.

Gradstein, R. & Vanzanten, B. 1999. High altitude dispersal of spores - an experimental approach. XVI International Botanical Congress Abstract No. 4439. CD-ROM sponsored by McGraw Hill and Yale University Press, New York.

Guo, Q., Kato, M. Ricklefs, R.E. 2003. Life history, diversity and distribution: a study of Japanese pteridophytes. *Ecography* 26: 129-138.

Guindon, S. & Gascuel, O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology* 52: 696-704.

Hasebe, M., Wolf, P. G; Pryer, K. M., Ueda, K. M. Ito, R., Sano, M. I. R.; Gastony, G. J., Yokoyama, J., Manhart, J. R., Murakami, N., Crane, E. H., Hafler, C. H. & Hauk, W. D. 1995. Fern phylogeny based on *rbcL* nucleotide sequences. *American Fern Journal* 85: 134-181.

Holttum, R. E. 1963. Cyatheaceae. In C. G. G. J. Van Steenis and R. E. Holttum [eds.], *Flora Malesiana*. Martinus Nijhoff, 65–176. Dr. W. Junk, The Hague, Netherland.

Holttum, R. E. & P. Edwards. 1983. The tree ferns of Mount Roraima and neighbouring areas of the Guayana Highlands with comments on the family Cyatheaceae. *Kew Bulletin* 38: 155-188.

Hooker, J. D. 1845. *The Botany of the Antarctic Voyage, Vol.1: Flora Antarctica* (Reeve, London).

Kato, M. 1993. Biogeography of ferns: dispersal and vicariance. *Journal of Biogeography* 20: 265-274.

- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K. & Miyata, T. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res.* 30: 3059-3066.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Mentjies, P., & Drummond, A. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28(12): 1647-1649.
- Korall, P., Pryer, K. M., Metzgar, J. S., Schneider, H. & Conant, D.S. 2006. Tree ferns: monophyletic groups and their relationships as revealed by four protein-coding plastid loci. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 39: 830-845.
- Korall, P., Conant, D.S., Metzgar, J.S., Schneider, H. & Pryer, K.M. 2007. A molecular phylogeny of scaly tree ferns (Cyatheaaceae). *American Journal of Botany* 94: 873-886.
- Korall, P. & Pryer, K.M. 2014. Global biogeography of scaly tree ferns (Cyatheaaceae): evidence for Gondwanan vicariance and limited transoceanic dispersal. *Journal of Biogeography* 41: 402-413.
- Kramer, K. U. 1990. Dicksoniaceae. In K. Kubitzki [ed.], *The families and genera of vascular plants*. Kramer, K. U., and P. S. Green [eds.], vol. 1. Pteridophytes and gymnosperms, 94-99. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Labiak, P. H. & Matos, F.B. 2009. *Cyathea atrocastanea*, a New Tree Fern from the Atlantic Rain Forest of Southeastern Brazil. *Systematic Botany* 34(3): 476 - 480.
- Lack, D. 1947. *Darwin's finches*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Lehnert, M. 2006. The Cyatheaaceae and Dicksoniaceae (Pteridophyta) of Bolivia. *Brittonia* 58: 229-244.
- Lellinger, D. B. 1987. The disposition of *Trichopteris* (Cyatheaaceae). *American Fern Journal* 77: 90–94.
- Lorscheitter, M. L., Ashraf, A. R., Windsch, P. G. & Mosbrugger, V. 1999. Sonder-Abdruck aus *Palaeontographica Beiträge zur Naturgeschichte der Vorzeit*. PartII. Pteridophyte

spores of Rio Grande do Sul flora, Brazil. Stuttgart, E. schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung.

Maddison, W. P. & Maddison, D. R. 2015. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.04 <http://mesquiteproject.wikispaces.com>.

Martins, L. S. G. & Alves, R. J. V. 2007. Regeneração Natural do Morro Vermelho, Ilha da Trindade. *Revista Brasileira de Biociências* 5(1): 39-41.

Miller, M. A., M. T., Holder, R., Vos, P. E., Midford, T., Liebowitz, L., Chan, P., Hoover, & Warnow, T. 2010. The CIPRES Portals. CIPRES. Website http://www.phylo.org/sub_sections/portal [accessed 06 January 2015].

Moran, R. C. 1995. *Cyathea*. Pp. 93 – 103 in *Flora Mesoamericana*, Vol. 1, Psilotaceae a Salviniaceae, eds. R. C. Moran & R. Ribas. México: Universidad Nacional Autónoma de México.

Moran, R. C. & Smith, A. R. 1999. Pteridophyte disjunctions between the Neotropics and Africa/Madagascar: vicariance or long-distance dispersal? XVI International Botanical Congress. Abstract 15.4.4.

Moran, R. C., Klimas, S. & Carlsen, M. 2003. Low-trunk epiphytic ferns on tree ferns versus angiosperms in Costa Rica. *Biotropica* 35: 48-56.

Muller, K. 2004. SeqState - primer design and sequence statistics for phylogenetic DNA data sets - *Appl. Bioinformatic* 4: 65-69.

Mullis, K. B., Faloona, F. A. 1987. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol* 155: 335-350.

Muñoz, J., Felicísimo, A. M., Cabezas, F., Burgaz, A., & Martínez, I. 2004. Wind as a long-distance dispersal vehicle in the Southern Hemisphere. *Science* 304: 1144-1147.

Nagalingum, N.S., Schneider, H. & Pryer, K. M. 2007. Molecular phylogenetic relationships and morphological evolution in the heterosporous fern genus *Marsilea*. *Systematic Botany* 32: 16-25.

- Oliver, W. R. B. 1925. Biogeographical relations of the New Zealand. Botanical Journal of the Linnean Society 47: 99-139.
- Pryer, K. M., Schuettpelz, E., Wolf, P. G., Schneider, H., Smith, A. R. & Cranfill, R. 2004. Phylogeny and evolution of ferns (monilophytes) with a focus on the early leptosporangiate divergences. American Journal of Botany 91: 1582-1598.
- Rambaut, A. & Drummond, A. J. 2013. Tracer v1.4, Available from <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- Ramírez-Barahona, S. & Luna-Vega, I. 2015. Geographic differentiation of tree ferns (Cyatheales) in Tropical America. American Fern Journal 105(2): 73-85.
- Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P. 2003. MrBayes version 3.0: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics 19(12): 1572-1574.
- Schluter, D. 1988. Displacement and the Adaptive Divergence of Finches on Islands and Continents. The American Naturalist 131(6): 799-824.
- Schmitt, J. L. & Windisch, P. G. 2007. Estrutura populacional e desenvolvimento da fase esporofítica de *Cyathea delgadii* Sternb. (Cyatheaaceae, Monilophyta) no sul do Brasil. Acta botanica brasílica 21(3): 731-740.
- Schuettpelz, E. & Pryer, K. M. 2007. Fern phylogeny inferred from 400 leptosporangiate species and three plastid genes. Taxon 56(4):1037-1050.
- Shepherd, L.D.; de Lange, P.J.; Perrie, L.R. 2009. Multiple colonizations of a remote oceanic archipelago by one species: how common is long distance dispersal? Journal of Biogeography 36: 1972-1977.
- Silvestro, D. & Michalak, I. 2012. raxmlGUI: a graphical front-end for RAXML - Org. Divers. Evolution 12: 335-337.
- Simmons, M. P. & Ochoterena, H. 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic analyses. Systematic Biology 49: 369-381.
- Smith, A. R., Pryer, K. M., Schuettpelz, E., Korall, P., Schneider, H. & Wolf, P. G. 2006. A

classification for extant ferns. *Taxon* 55: 705-731.

Smith, A. R., Pryer, K. M., Schuttpelz, E., Korall, P., Schneider, H. & Wolf, P. 2008. Fern classification. Pp. 417–467 in *Biology and evolution of ferns and lycophytes*, eds. T. A. Ranker and C. H. Haufler. New York: Cambridge University Press.

Stamatakis, A. 2006. RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models, *Bioinformatics* 22: 2688 - 2690.

Stein, D. B., Conant, D.S. & Valinski, A. E. C. 1997. The implications of chloroplast DNA restriction site variation on the classification and phylogeny of the Cyatheaceae. In: R. J. Johns [ed.], *Holttum Memorial Volume*, 235 -254. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.

Swofford, D. L. 2003. PAUP* Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods) version 4 - Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Taberlet, P. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105-1109.

Tryon, R. 1970. The classification of the Cyatheaceae. *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University* 200: 1-53.

Tryon, A. F. & Feldman, L. J. 1975. Tree fern indusia: studies of development and diversity. *Canad. Jour. Bot.* 53: 2260-2273.

Tryon, R. 1976. A revision of the genus *Cyathea*. *Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University* 206: 19 -101.

Tryon, R. M & Tryon, A.F. 1982. *Ferns and allied plants with special reference to Tropical America*. New York, Springer-Verlag.

Tuomisto, H., Ruokolainen, K. & Yli-Halla, M. 2003. Dispersal, environment, and floristic variation of western Amazonian forests. *Science* 299: 241-244.

Wild, M. & Gagnon, D. 2005. Does Lack of Available Suitable Habitat Explain the Patchy Distributions of Rare Calcicole Fern Species. *Ecography* 28(2): 191-196.

- Windisch, P. G., Santiago, A. C. P. 2014. Cyatheaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB90854>>. Acesso em: 02 Jan. 2014.
- Winkworth, R. C., Wagstaff, S. F., Glenny, D. & Lockhart, P.J. 2002. Plant dispersal N.E.W.S from New Zealand. *Trends Ecol. Evol.* 17: 514-520.
- Wolf, P. G., Schneider, H. & Ranker, T. 2001. Geographic distributions of homosporous ferns: does dispersal obscure evidence of vicariance? *Journal of Biogeography* 28: 263-270.

Anexo. Taxa examinados neste estudo. Informações do voucher, números de banco de dados de DNA no GenBank, números de adesão para cada região sequenciado (*trnGR*, *trnLF*) e coleta de localidade. Espécimes depositados nos seguintes herbários: E = Royal Botanic Garden Edinburgh; LSC = Lyndon State College; S = Museu de História Natural da Suécia; TI = Universidade de Tóquio.

Táxon — Voucher (Herbário); Fern DNA DB no.; GenBank accessions: *trnGR*, *trnL-F* e *rbcL-accD*; Collection / localidade.

Ingroup

Cyathea alata Copel.-Swenson et al. 613 (S); 2245; AM410363, AM410436, NA; New Caledonia. ***Cyathea arborea*** (L.) Sm. - Conant 4344(LSC); 2491; AM410396, NA; Puerto Rico. *Cyathea caracasana* (Klotzsch) Domin - Conant 4412 (LSC); 3114; AM410396, NA; Puerto Rico. ***Cyathea caracasana*** (Klotzsch) Domin - Conant 4412 (LSC); 3114; AM410422, AM410351, AM410470, AM410493; Costa Rica. ***Cyathea divergens*** Kunze - Conant 4384 (LSC); 2332; AM410386, AM410321, AM410460; Costa Rica. ***Cyathea furfuracea*** Baker - Conant 4325 (LSC); 3115; AM410423, AM410352, AM410494; Puerto Rico. ***Cyathea gibbosa*** (Klotzsch) Domin - Conant 4462 (LSC); 2492; AM410397, AM410330, AM410471; Venezuela. ***Cyathea gracilis*** Griseb. - Conant 4415 (LSC); 3108; AM410416, AM410345, AM410487; Costa Rica. ***Cyathea grandifolia*** Willd. - Conant 4488 (LSC); 2309; AM410367, AM410302, AM410440; Venezuela. ***Cyathea horrida*** (L.) Sm. - Conant 4343 (LSC); 2331; AM410385, AM410320, AM410459; Puerto Rico. ***Cyathea howeana*** Domin - Conant 4665 (LSC); 2317; AM410372, AM410308, AM410446; Lord Howe Island. ***Cyathea karsteniana*** (Klotzsch) Domin - Conant 4471 (LSC); 3112; AM410420, AM410349, AM410491; Venezuela. ***Cyathea multiflora*** Sm. - Conant 4425 (LSC); 2333; AM410387, AM410322, AM410461; Costa Rica. ***Cyathea mutica*** (Christ) Domin - Conant 4385 (LSC); 3111; AM410419, AM410348, AM410490; Costa Rica. ***Cyathea parvula*** (Jenman) Domin - Conant 4332 (LSC); 2330; AM410384, AM410319, AM410458; Puerto Rico. ***Cyathea poeppigii*** Domin - Conant 4410 (LSC); 2367; AM410394, AM410328, AM410468; Costa Rica. ***Cyathea robertsiana*** (F. v. Muell.) Domin - Shirley 12(LSC); 3107; AM410415, AM410344, AM410486; Australia. ***Cyathea schiediana*** (C. Presl) Domin - Conant 4367 (LSC); 3109; AM410417, AM410346, AM410488; Honduras. ***Cyathea senilis*** (Klotzsch) Domin - Conant 4479(LSC); 2496; AM410399, AM410332, AM410203; Venezuela. ***Cyathea speciosa*** H. & B. ex Willd. - Conant 4476(LSC); 2493; AM410398, AM410331, AM410472; Venezuela. ***Cyathea stipularis*** (Christ) Domin - Conant 4395(LSC); 3110; AM410418, AM410347, AM410219; Costa Rica. ***Cyathea valdecrenata*** Domin - Conant 4376 (LSC); 3113; AM410421, AM410350, AM410492; Honduras.

Outgroups

Alsophila cunninghamii (Hook. f.) R. Tryon - Shirley 06 (LSC); 3102; AM410410, AM410339, AM410482; Australia. ***Alsophila dregei*** (Kunze) R. Tryon - Shirley 13 (LSC); 2325; AM410380, AM410315, AM410454; Africa.

Conclusão

Estudos com DNA em ambos trabalhos referentes às espécies do gênero *Campylopus* e *Cyathea* da Ilha da Trindade, mostram que não existe caso de endemismo. As partes vegetativas de uma planta (filídios e folhas) são os órgãos mais expostos a condições ambientais, e os caracteres podem variar em sua plasticidade fenotípica como a mudança do fenótipo expresso de um genótipo em função do ambiente. Também pode ocorrer uma variação ecotípica, em que as espécies variam geneticamente adaptadas às condições ambientais específicas, principalmente se tratando de estudos em ilhas, pois são ambientes isolados e adequados para organismos selecionados colonizarem e adaptarem a áreas mais restritas.

A aplicação de técnicas moleculares nesse estudo para testar tais hipóteses traz à conclusão de que o conceito morfológico nem sempre reflete em sua diversidade genética. Com o uso da filogenia, a identificação original dos espécimes não se encaixou com a posição filogenética, ao contrário com o que foi anteriormente reconhecido com as duas espécies de *Campylopus* da Ilha da Trindade. Sendo que no estudo com a *Cyathea* da ilha, veio a confirmar que os espécimes (insular e continental) se referem a uma única espécie com pequenas variações de caracteres.

As diferenças encontradas entre os espécimes da ilha e as do interior do continente mostram uma variação ecotípica. Fatores exógenos como temperatura, solo e água no ambiente fazem com que plantas ao longo do processo evolutivo que se estabeleçam em ambientes com menor disponibilidade de água, desenvolvem adaptações, morfológicas, anatômicas e fisiológicas, que juntos, resultam no sucesso adaptativo às condições que tais ambientes oferecem. Como a folha é a estrutura que mais se modifica em resposta às alterações ambientais e constitui o principal sítio na produção de fotoassimilados, algumas espécies do cerrado apresentam modificações não apenas nas folhas mais em outras partes vegetativas, estruturas como forte presença de tricomas, parênquima incolor e espinhos desenvolvidos. Tais características foram bem expressos na filogenia para identificar os espécimes insulares e continentais.

As ilhas geralmente são colonizadas por um número restrito de espécies continentais, podendo especiar. É comum especiações em uma ampla variedade de formas de crescimento, incluindo arbustos e árvores, sendo assim, as espécies irradiam para novos

tipos de habitats. Esta é uma forma na qual a mudança de ambiente competitivo pode ser expressa na morfologia e/ou na filogenia de endemismos insulares.

Acreditava-se que o endemismo ocorrente com a *Cyathea* da ilha fosse pelo o isolamento que normalmente ocorre em floras insulares, porém a distribuição dos organismos pode ser resultado de uma dispersão, ou vicariância provocada pela deriva continental. Esse último fator não se aplica à Ilha da Trindade, pois a ilha em estudo é resultado de erupções vulcânicas ocorridas já no período em que as massas continentais já tinham se dividido entre os continentes americano e africano.

A dispersão à longa distância é um mecanismo eficiente entre as plantas produtoras de esporos como briófitas e pteridófitas. A grande quantidade de esporos produzida por esse grupo de plantas facilita sua distribuição e dominância em áreas mais isoladas, pois suas unidades de reprodução são independentes, isto é, germinam diretamente, sem necessidade de fertilização. Na água algumas estruturas reprodutivas podem ter mobilidade através de flagelos como os anterozóides, visto que no caso da colonização à Ilha da Trindade, a água do mar é um fator limitante e os esporos não resistem ao sal. No entanto a dispersão pelo vento é mais eficiente, e as espécies podem apresentar paredes celulares com envoltórios que protegem contra o dessecação.

Outro fator que facilita a dispersão dos *Campylopus* e *C. delgadii* pode ter sido por meio de *stepping-stones*, termo utilizado em biogeografia para descrever o processo de colonização de habitats fragmentados, onde a espécie pode passar de um fragmento para outro adjacente. A Ilha da Trindade faz parte de uma cadeia de montanhas submarinas, sendo apenas a ponta de uma montanha. No entanto na última glaciação outras montanhas que compõem a cadeia, que atualmente permanecem submersas, eram emersas. Em genética de populações, esse termo representa um modelo de estrutura populacional onde o fluxo gênico é restrito às populações adjacentes.

Para a formação de uma nova espécie, os dois organismos devem ter diferenças genéticas que às vezes podem ser expressas em sua morfologia. Os mecanismos básicos da evolução como a deriva genética, seleção natural ou fluxo gênico reduzido, desempenham um papel crítico na especiação. Classificar espécies baseado nas relações filogenéticas, evidenciando as sinapomorfias morfológicas, dará resposta às dúvidas de endemismos e sua importância evolutiva, sendo também uma ferramenta biogeográfica, principalmente se a classificação é baseada em hipóteses apoiadas nas relações, e

representa uma base sólida para novos estudos detalhados dentro dos organismos.