

# Caracteres Funcionais e Reprodutivos de Duas Espécies de *Pitcairnia* (Bromeliaceae) Ameaçadas da Floresta Atlântica e Seus Híbridos Naturais

Palavras-Chave: Hibridização, Sistemas De Acasalamento, Isolamento Reprodutivo

Autores/as:

Henrique Vilela Da Mata Bianchini, IB, UNICAMP

Msc. Marília Manuppella Tavares, IB, UNICAMP

Dra. Bárbara Simões Santos Leal, ITV

Dr. Cleber Juliano Neves Chaves, IB, UNICAMP

Profa. Dra. Clarisse Palma Da Silva (Orientadora), IB, UNICAMP

## INTRODUÇÃO:



Figura 1. Da esquerda para a direita, uma flor de *P. albiflos*, de um híbrido e uma de *P. staminea*. A barra de escala tem aproximadamente 1,7cm.

As bromélias saxícolas *Pitcairnia albiflos* e *Pitcairnia staminea* são endêmicas da Floresta Atlântica, com distribuição restrita a alguns afloramentos rochosos no estado do Rio de Janeiro. Essas espécies formam híbridos naturais viáveis quando ocorrem em simpatria, mesmo apresentando barreiras reprodutivas pré-zigóticas. Foi demonstrado que uma das populações simpátricas de *P. staminea* apresenta diferenças na morfologia floral e no sistema de acasalamento em relação às populações alopátricas. A hercogamia tem grande influência sobre o

sistema de acasalamento, porque quanto menor ela for, maiores são as chances de autofecundação. Assim, uma hercogamia menor nas populações simpátricas poderia evitar a fecundação por outra espécie e/ou híbrido, reforçando o isolamento reprodutivo. Novos estudos que comparem essa e outras características reprodutivas e funcionais entre populações simpátricas e alopátricas de ambas as espécies se fazem necessários para melhorar a compreensão sobre o processo de especiação dessas espécies e sobre a dinâmica de fluxo gênico existente entre elas. O objetivo deste estudo é avaliar a existência de diferenças significativas de caracteres vegetativos funcionais e reprodutivos entre populações alopátricas e simpátricas de *P. albiflos* e *P. staminea*.

## METODOLOGIA:

### Amostragem

Foram coletadas 168 plantas de quatro populações de *inselbergs* da Floresta Atlântica, no estado do Rio de Janeiro, sendo duas simpátricas (CHA e URC) e uma alopátrica de cada espécie (ITA e PBO). Esses indivíduos estão sendo cultivados e aclimatados desde 2022, em uma casa de vegetação do Departamento de Biologia Vegetal do Instituto de Biologia da UNICAMP, em Campinas, SP.

Tabela 1. Número de indivíduos por população e espécie.

População	Localidade	Coordenadas	Espécie(s) Putativa(s)	Nº de indivíduos
CHA	Chacrinha, Rio de Janeiro (RJ)	47W 47' 26" , 14S 11' 04'	<i>P. albiflos</i> , <i>P. staminea</i> , e híbridos	38
ITA	Itacoatiara, Niterói (RJ)	55W 29' 44" , 20S 27' 35"	<i>P. staminea</i>	24
PBO	Pedra Bonita, Rio de Janeiro (RJ)	48W 02' 55" , 15S 28' 55'	<i>P. albiflos</i>	28
URC	Urca, Rio de Janeiro (RJ)	43W 11' 52" , 19S 06' 40'	<i>P. albiflos</i> , <i>P. staminea</i> , e híbridos	78

### Análise de características funcionais foliares

Para essas análises, foram coletadas as folhas mais jovens completamente desenvolvidas de cada uma das plantas a serem avaliadas. As características foram mensuradas em pelo menos três indivíduos de cada população de cada espécie e dos híbridos. Os atributos funcionais mensurados foram: área foliar, massa foliar seca, massa foliar túrgida, índice de suculência, área foliar específica, densidade de estômatos e densidade de tricomas. Esses dois últimos foram acessados por meio de lâminas de impressão de epiderme para microscopia ótica feitas com esmalte de unha.

### Análise de caracteres reprodutivos

Foi realizada a morfometria linear, através do software Image J, das flores dos indivíduos que floresceram no período do projeto. As flores eram coletadas em álcool 70° no dia da antese. Isso possibilitou a medida do comprimento e largura das sépalas, pétalas e bráctea; e comprimento do pedicelo, pistilo, estilete e anteras.

A hercogamia foi mensurada com um paquímetro digital, entre 08:00h e 12:00h da manhã após antese completa. As inflorescências tiveram seu comprimento total, do escapo e da ráquis mensurados, e o número de flores por inflorescência também foi contabilizado.

### Análise estatística

As diferenças significativas entre os grupos (tanto entre populações como entre taxa) e caracteres analisados foram avaliadas através das análises ANOVA (análise de variância) e do teste de Tukey, ambas realizadas no software RStudio (Rstudio Team, 2023) baseado na linguagem de programação R (R Core Team. 2022).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO:

### Caracteres reprodutivos

Dentre os caracteres reprodutivos avaliados, o comprimento do pedicelo e o comprimento da ráquis da inflorescência apresentaram diferenças significativas entre as populações simpátricas e alopátricas. (ver Tabela 2). Os pedicelos das flores dos indivíduos alopátricos de *P. albiflos* são menores (1,02cm (+- 0,046cm)) do que os pedicelos dos

Tabela 2. Caracteres reprodutivos com diferença significativa entre as populações alopátricas e simpátricas

Caracteres Reprodutivos	<i>P. albiflos</i>		<i>P. staminea</i>	
	Alopátrica X Simpátrica		Alopátrica X Simpátrica	
	Média (Erro padrão)	Nº de amostras	Média (Erro padrão)	Nº de amostras
Comp. Pedicelo	1,608cm* (+-0,057cm)	8 (alopátrica); 17 (simpátrica)	-	-
Comp. Ráquis	-	-	24,244cm* (+-1,325cm)	6 (alopátrica); 19 (simpátrica)

(\*) indica valor de p<0,05

indivíduos da população simpátrica (1,5cm (+-0,083cm)). A população alopátrica de *P. staminea* possui média de comprimento da ráquis menor do que a população simpátrica (24,2cm(+ - 1,89cm) e 35,5cm(+ - 1,80cm), respectivamente). Quanto menor o comprimento da ráquis, mais próximas as flores ficam na inflorescência. Isso poderia aumentar as chances de geitonogamia, uma forma de autopolinização na qual o pólen tem origem em outra flor, mas do mesmo indivíduo. Num contexto de simpatria, a geitonogamia seria uma estratégia que dificultaria a chegada de pólen de *P. albiflos* ou dos híbridos, reforçando o isolamento reprodutivo. Porém essa não foi a situação observada. É possível que as diferenças na disposição das flores na inflorescência possam afetar a sua percepção pelos polinizadores, reduzindo o número de visitas, o que também reduziria as chances de cruzamento entre as espécies nas populações simpátricas.

As análises não demonstraram diferenças significativas nos valores de hercogamia entre as populações alopátricas e simpátricas de *P. albiflos* e *P. staminea*. Porém, observa-se que a média de hercogamia da população alopátrica de *P. staminea* é maior do que a médias da população simpátrica (Alopátrica: 5,082mm (+- 1,041mm); Simpátrica 3,236mm (+-0,920mm)), podendo ser uma evidência de reforço do isolamento reprodutivo na situação de simpatria.

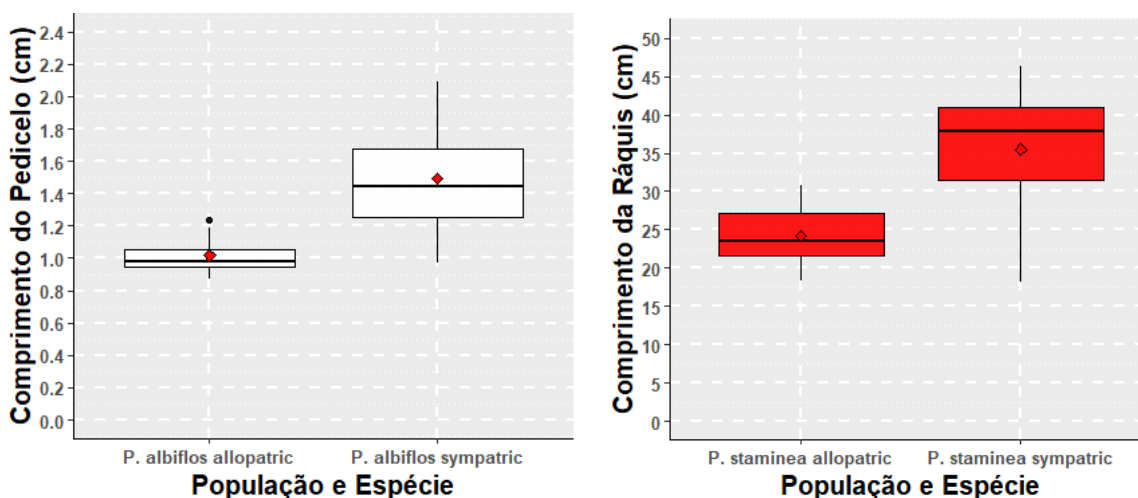


Figura 2. Boxplots mostrando os valores obtidos para o comprimento do pedicelo nas populações de *P. albiflos* (esquerda), e valores para o comprimento da ráquis nas populações de *P. staminea*. p<0,05.

## Caracteres funcionais

A característica funcional que apresentou diferença significativa entre uma população simpátrica e alopátrica foi a área foliar, em *P. staminea*. A área foliar encontrada para os indivíduos da população simpátrica é maior do que a área encontrada para os indivíduos da população alopátrica ( $39,4\text{cm}^2(+3,61\text{cm}^2)$  e  $28,5\text{cm}^2(+1,91\text{cm}^2)$ , respectivamente). A diferença na média de área foliar entre essas populações pode sugerir que existem diferenças nas estratégias ecológicas adotadas pelos indivíduos de cada uma.

Por fim, identificamos a presença de tricomas nas faces adaxial e abaxial das folhas de *P. albiflos*, algo ainda não reportado na literatura.

## CONCLUSÕES:

As análises dos dados obtidos a partir dos caracteres reprodutivos e funcionais mostram a grande complexidade desse sistema de especiação recente com fluxo gênico. É possível perceber que os sistemas de *P. albiflos* e *P. staminea* podem se comportar de formas diferentes entre as populações, mesmo entre as simpátricas. Esse trabalho mostra que podem existir muitas características, tanto reprodutivas quanto funcionais, ligadas à adaptação local de populações e ao reforço do isolamento reprodutivo dessas espécies, que parece ser mais proeminente em *P. staminea* do que em *P. albiflos*. Estudos posteriores que investiguem a fundo como se estabelecem e o que regula as características envolvidas com o isolamento reprodutivo, como a variação de cor e aroma nas flores, podem ajudar a elucidar alguns pontos relevantes sobre os processos de especiação com fluxo gênico. Além disso, esses dados podem ser úteis em elaborações de planos de manejo para a conservação de espécies endêmicas.

**Tabela 3.** Caracteres funcionais com diferença significativa

<i>P. staminea</i>		
Alopátrica X Simpátrica		
Caracteres Funcionais	Média (Erro padrão)	Nº de amostras
Área Foliar	27,72cm <sup>2</sup> * (+- 1,375cm <sup>2</sup> )	15 (alopátrica); 17 (simpátrica)

(\*) indica valor de  $p < 0,05$

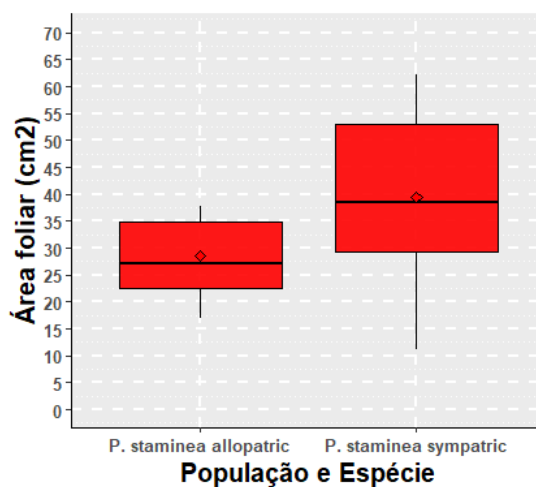


Figura 3. Boxplot indicando os valores de área foliar obtidos para as populações alopátricas e simpátricas de *P. staminea*. Valor de  $p < 0,05$ .

## BIBLIOGRAFIA

- CNCFlora. *Pitcairnia albiflos* in Lista Vermelha da flora brasileira versão 2012.2 Centro Nacional de Conservação da Flora. Disponível em <[http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Pitcairnia albiflos](http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Pitcairnia%20albiflos)>. Acesso em 11 maio 2023.
- Opedal, Øystein H. 2018. "Herkogamy, a Principal Functional Trait of Plant Reproductive Biology." *International Journal of Plant Sciences* 179 (9): 677–87. <https://doi.org/10.1086/700314>.
- Palma-Silva, C., M. Ferro, M. Bacci, and A. C. Turchetto-Zolet. 2016. "De Novo Assembly and Characterization of Leaf and Floral Transcriptomes of the Hybridizing Bromeliad Species (*Pitcairnia* Spp.) Adapted to Neotropical Inselbergs." *Molecular Ecology Resources* 16 (4): 1012–22. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12504>.
- PALMA-SILVA, C., T. WENDT, F. PINHEIRO, T. BARBARÁ, MICHAEL F. FAY, S. COZZOLINO, and C. LEXER. 2011. "Sympatric Bromeliad Species (*Pitcairnia* Spp.) Facilitate Tests of Mechanisms Involved in Species Cohesion and Reproductive Isolation in Neotropical Inselbergs." *Molecular Ecology* 20 (15): 3185–3201. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294x.2011.05143.x>.
- Palma-Silva, Clarisse, Salvatore Cozzolino, Gecele Matos Paggi, Christian Lexer, and Tânia Wendt. 2015. "Mating System Variation and Assortative Mating of Sympatric Bromeliads (*Pitcairnia*Spp.) Endemic to Neotropical Inselbergs." *American Journal of Botany* 102 (5): 758–64. <https://doi.org/10.3732/ajb.1400513>.
- Pérez-Harguindeguy, N., S. Díaz, E. Garnier, S. Lavorel, H. Poorter, P. Jaureguiberry, M. S. Bret-Harte, et al. 2016. "Corrigendum To: New Handbook for Standardised Measurement of Plant Functional Traits Worldwide." *Australian Journal of Botany* 64 (8): 715. [https://doi.org/10.1071/bt12225\\_co](https://doi.org/10.1071/bt12225_co).
- RStudio Team (2023). RStudio: Integrated Development for R. RStudio, PBC, Boston, MA URL <http://www.rstudio.com/>.
- Tavares, Marília Manuppella, Milene Ferro, Bárbara Simões Santos Leal, and Clarisse Palma-Silva. 2022. "Speciation with Gene Flow between Two Neotropical Sympatric Species ( *Pitcairnia* Spp.: Bromeliaceae)." *Ecology and Evolution* 12 (5). <https://doi.org/10.1002/ece3.8834>.
- Violle, Cyrille, Marie-Laure Navas, Denis Vile, Elena Kazakou, Claire Fortunel, Irène Hummel, and Eric Garnier. 2007. "Let the Concept of Trait Be Functional!" *Oikos* 116 (5): 882–92. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2007.15559.x>.
- Wendt, Tânia, Maria Bernadete Ferreira Canela, Ana Paula Gelli de Faria, and Ricardo Iglesias Rios. 2001. "Reproductive Biology and Natural Hybridization between Two Endemic Species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae)." *American Journal of Botany* 88 (10): 1760–67. <https://doi.org/10.2307/3558350>.
- Wendt, T., M. B. F. Canela, D. E. Klein, and R. I. Rios. 2002. "Selfing Facilitates Reproductive Isolation among Three Sympatric Species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae)." *Plant Systematics and Evolution* 232 (3-4): 201–12. <https://doi.org/10.1007/s006060200043>.
- Wendt, Tânia, Natália Prado Lopes Paz, and Ricardo Iglesias Rios. "A Morphometric Analysis of a Putative Hybrid between *Pitcairnia Albiflos* and *P. Staminea* (Bromeliaceae)." *Selbyana* 21, no. 1/2 (2000): 132–36. <http://www.jstor.org/stable/41760064>.