



**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGIA VEGETAL)**

**INFLUÊNCIA DAS OSCILAÇÕES CLIMÁTICAS DO QUATERNÁRIO NA
HISTÓRIA BIOGEOGRÁFICA DA FLORESTA ATLÂNTICA: UMA
INTERPRETAÇÃO A PARTIR DE ANÁLISES FILOGEOGRÁFICAS DE
Lepismium cruciforme (VELL.) MIQ. (CACTACEAE)**

THIAGO DE CASTRO RIBEIRO

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências do Câmpus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal).

Janeiro - 2018

THIAGO DE CASTRO RIBEIRO

Influência das Oscilações Climáticas do Quaternário na História
Biogeográfica da Floresta Atlântica: uma interpretação a partir de
análises filogeográficas de *Lepismium cruciforme* (Vell.) Miq.
(CACTACEAE)

Orientador: Prof. Dr. Fabio Pinheiro

Dissertação apresentada ao
Instituto de Biociências do Campus
de Rio Claro, Universidade Estadual
Paulista, como parte dos requisitos
para obtenção do título de Mestre
em Ciências Biológicas (Biologia
Vegetal).

Rio Claro

2018

574.9
R484i Ribeiro, Thiago de Castro
Influência das oscilações climáticas do quaternário na história biogeográfica da Floresta Atlântica: uma interpretação a partir de análises filogeográficas de *Lepismium cruciforme* (Vell.) Miq. (CACTACEAE) / Thiago de Castro Ribeiro. - Rio Claro, 2018
54 f. : il., figs., gráfs., tabs., mapas

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Rio Claro
Orientador: Fabio Pinheiro

1. Biogeografia. 2. Refúgios. 3. Filogeografia. 4. Conservação. 5. Glaciações. I. Título.

Agradecimentos

Primeiramente, gostaria de agradecer ao meu orientador Fabio por ter acreditado no projeto e ter dado todo o suporte e inspiração para sua conclusão. Também sou muito grato à Clarisse e a todas as pessoas do Laboratório de Ecologia Molecular, por todo apoio. Agradeço à Isabelle com a ajuda durante as extrações, ao Mateus pela paciência que teve para me explicar como preparar os mix e as PCRs, à Fernanda por ter dado diversas dicas e compartilhado muitos momentos de alegria e frustração com as análises laboratoriais, ao Cleber por ter me apresentado as maravilhas do BSA e à Barbara por ter me ajudado com as análises estatísticas. Sem vocês, esse trabalho jamais teria sido possível. Também agradeço à prof. Dora, da Universidade Estadual de Maringá, por toda atenção e contribuição para o trabalho. Ainda, sou igualmente grato a todos os funcionários da UNESP por terem contribuído com a administração, manutenção e limpeza das dependências do Instituto. Vocês são essenciais para todos nós.

Gostaria de agradecer meus amigos, por terem me amparado durante todo o desenvolvimento do projeto. Agradeço ao Fabricio (meu braço direito em campo) por toda ajuda que tive, ao Georg e sua equipe por ter ajudado nas coletas, à Rafa e ao Bruno (Cré) por terem me socorrido diversas vezes com os programas estatísticos, à Matraca por ter me ajudado na quantificação de DNA das amostras e a todos que me confortaram de diversas formas, principalmente nos momentos de tensão.

Agradeço à minha família por incentivar meus estudos e confiar em meus passos. Quero fazer um agradecimento especial para a minha companheira de trilhas e viagens, de jardinagem e plantios, de mudanças e jornadas, artesã, herbologista, coletora de sementes, conchas e pedras, Karina. Também sou muito grato a todo apoio que tive dos seus pais Elaine e Rubens. Vocês tornam essas caminhadas muito mais leves.

Por fim, agradeço ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por conceder a bolsa para realização do meu mestrado, à CAPES por fornecer o auxílio financeiro para a realização do trabalho de campo (PROAP), ao Instituto Ambiental do Paraná (IAP), Instituto Florestal (IF) e aos Departamentos de Botânica e Ecologia pela infraestrutura oferecida.

“Para remover todas as barreiras no caminho da ciência”

(Alexandra Elbakyan)

RESUMO

O Quaternário é marcado por grandes pulsações climáticas, com longos intervalos de tempo geológico sob regime glacial intercalados com curtos períodos mais quentes, onde grandes transformações na paleovegetação se deram em consequência dessas oscilações climáticas. Existem fortes evidências de que os padrões de distribuição da diversidade existente na Floresta Atlântica atual podem ser explicados, em grande parte, pelas alterações climáticas ocorridas durante esse período. Ainda assim, existem muitas lacunas e divergências na literatura quanto aos padrões de ocupação que essas vegetações desenvolveram durante essas mudanças ambientais. Através da utilização de uma espécie de cacto epífita (*Lepismium cruciforme*) – com ampla distribuição na Floresta Atlântica – como modelo para estudos filogeográficos, realizamos análises intraespecíficas em oito populações ao longo de remanescentes florestais em unidades de conservação e manchas florestais urbanas para responder as seguintes questões: a) Podemos identificar múltiplas linhagens de *L. cruciforme* entre diferentes populações localizadas na Floresta Estacional Semidecidual? b) Caso detectadas, essas diferentes linhagens estariam associadas a algum tipo de isolamento geográfico? c) As populações de *L. cruciforme* sofreram oscilações demográficas históricas? d) Existe um gradiente longitudinal continente/oceano de diversidade genética? Através do marcador molecular nuclear (*ITS*), analisamos 71 sequências de 638 locus e identificamos nove haplótipos diferentes. Linhagens altamente diversificadas, em relação as demais, foram identificadas nas regiões do Pontal do Paranapanema, onde suas populações parecem ter sido influenciadas pela existência de uma barreira fluvial e, na região dos Campos Gerais, pelo provável confinamento à refúgios florestais cercados por vegetação aberta de campos de gramíneas. Os resultados demonstraram que as populações de *L. cruciforme* sofreram um gargalo demográfico seguido de uma recente expansão populacional, assim como esperado para espécies florestais. Não foi observado sinais um gradiente longitudinal continente/oceano de diversidade genética. Em vez disso, pudemos observar maiores valores diversidade genética em linhagens localizadas em regiões extremas da distribuição longitudinal, contrapondo com diversidades mais baixas na região central da distribuição amostrada. O uso desta espécie epífita em estudos filogeográficos se demonstrou promissor para a compreensão da dinâmica vegetacional da Floresta Atlântica, sobretudo das florestas

Estacionais Semidecíduais. Futuros trabalhos envolvendo outras espécies epifíticas, bem como estudos ecológicos envolvendo essas taxa, podem contribuir substancialmente para o entendimento da distribuição florestal – e de biomas associados – ao longo das oscilações climáticas do Quaternário. Esses resultados reforçam a importância da preservação de refúgios florestais que incluam, entre outras espécies interessantes, espécies epifitas como cactáceas da tribo Rhipsalideae DC.

Palavras-chave: *Refúgios, Filogeografia, Conservação, Glaciações.*

ABSTRACT

Quaternary period is well-known for its great climatic pulsations, that intercalates between long glacial regimes and shorter warmer periods which lead to significant changes in the paleovegetation occurred as a consequence of these climatic oscillations. Strong evidence that the diversity distribution patterns in the current Atlantic Forest can be largely explained by the climatic changes in this period. Nevertheless, there are many gaps and divergences in the literature regarding the occupancy patterns that these vegetations developed during these environmental changes. Using of an epiphytic cactus species (*Lepismium cruciforme*) - widely distributed in the Atlantic Forest - as a model for phylogeographic studies, performed intraspecific analyzes in eight populations along forest remnants in conservation units and urban forest spots to answer the following questions: a) Can multiple lineages of *L. cruciforme* among different populations in the seasonal semideciduous forest, be identified? b) If detected, would these different lineages be associated with some sort of geographical isolation? c) Have populations of *L. cruciforme* suffered from historical demographic fluctuations? Is there a growing genetic diversity in the continental/oceanic longitudinal gradient? d) Through the nuclear molecular marker (*ITS*), 71 sequences of 638 *loci* and identified nine different haplotypes. Highly diversified lineages were identified in Pontal do Paranapanema and Campos Gerais regions. In the first, populations appear to have been influenced by the existence of a river barrier and in the latter, the confinement to forests refuges surrounded by grass-fields vegetation, might be the probable reason for the observed genetic diversity. These results indicate that populations of *L. cruciforme* suffered a demographic bottleneck followed by a recent population expansion, as expected for forest species. No signs of a genetic diversity gradient were observed in the continental/oceanic longitudinal gradient. Instead, higher genetic diversity values in lineages located in extreme regions of the continental/oceanic distribution, in contrast to lower diversity in the central regions of the sampled distribution. The use of this epiphyte species in phylogeographic studies showed to be promising in understanding the Atlantic Forest vegetation dynamics, especially the seasonal semideciduous forests. Future works involving other epiphytic species, as well as ecological studies involving these taxa, can contribute substantially in the comprehension of the forest distribution - and associated biomes - throughout the climatic oscillations of the Quaternary. These

results reinforce the importance of preserving forest refuges that include, among other interesting species, epiphytic species such as cacti of the Rhipsalideae DC. tribe.

Keywords: Refuges, Phylogeography, Conservation, Glaciations.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
Dinâmica Climática do Quaternário.....	1
Paleo-Distribuição das Formações Florestais	3
Refúgios Pleistocênicos Neotropicais	5
Teoria do Arco Pleistocênico.....	6
Estudos filogeográficos Neotropicais	7
Uso de epífitas vasculares em estudos sobre a dinâmica Paleo-Florestal Tropical.	8
MATERIAL E MÉTODOS	10
Modelo Biológico	10
Amostragem.....	11
Extração de DNA, amplificação, sequenciamento e alinhamento.....	12
Diversidade genética e estrutura populacional.....	13
RESULTADOS	14
Diversidade genética	14
Estrutura populacional.....	14
Reconstrução dos haplótipos e padrões demográficos	14
DISCUSSÃO	15
CONSIDERAÇÕES FINAIS	18
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
APENDICE A. O protocolo de extração adaptado para <i>Lepismium cruciforme</i>	29
APENDICE B. Marcadores moleculares e iniciadores testados para <i>L. cruciforme</i>	30
Tabelas e Figuras	31
Tabela 1 – Detalhes dos locais de amostragem de <i>L. cruciforme</i>	32
Tabela 2 – Diversidade genética dentro de populações de <i>L. cruciforme</i>	33
Tabela 3 – Análise de variância molecular (AMOVA) para <i>L. cruciforme</i>	34
Tabela 4 – Análise de variância molecular (AMOVA) par a par	35
Tabela 5 – Testes de Neutralidade.	36
Figura 1 – Ciclos de Milankovitch.....	37
Figura 2 – Unidade estratigráfica do Alogrupo Alto Rio Paraná.....	38
Figura 3 – Mapa de distribuição das unidades na Bacia Bauru.	39
Figura 4 – Distribuição da Vegetação Sazonalmente Seca nos Neotropicos.	40
Figura 5 – O Arco Pleistocênico das FTSS do centro da América do Sul.	41
Figura 6 – Ilustração dos ramos de <i>L. cruciforme</i>	42
Figura 7 – Teste de Mantel.....	43
Figura 8 – Rede haplotípica.....	44
Figura 9 – Mapa da distribuição geográfica das populações amostradas	45

INTRODUÇÃO

Dinâmica Climática do Quaternário

Numerosos fatores intervêm no controle do clima terrestre e de suas flutuações. Pode-se, entretanto, classificá-los em quatro grupos, em função das variações de temperatura que podem provocar e da duração do ciclo de ação dos mesmos: (1) Eventos relacionados à implantação das condições do clima geral da Terra como o estabelecimento da geometria do Sistema Solar, bem como a mudança para uma atmosfera com efeito estufa, são denominados como flutuações climáticas de primeira ordem. (2) A tectônica global, a distribuição dos continentes e oceanos e as variações no teor de gases estufa, estão relacionados às flutuações climáticas de segunda ordem. (3) Variações dos parâmetros orbitais (excentricidade, obliquidade e precessão), de insolação, do nível do mar e da direção das correntes, correspondem às flutuações climáticas de terceira ordem. (4) Finalmente, configuram como flutuações climáticas de quarta ordem, as que são provocadas por erupções vulcânicas, oscilações oceânicas (El Niño e Oscilações do Atlântico Norte), ciclos de atividade solar, impactos de meteoritos e às atividades humanas (POMEROL et al., 2013).

Através dos estudos de registros sedimentares, tornou-se cada vez mais evidente que durante boa parte dos últimos 65 Ma., e além, o sistema climático da Terra experimentou mudanças contínuas, variando de extremas expansões de calor com os polos isentos de gelo a extremos frios com grandes massas continentais cobertas por capas de gelo. Essa mudança não é inesperada, pois as forças primárias que conduzem o clima a longo prazo, como a geometria orbital da Terra e os rearranjos das placas tectônicas, também estão em movimento perpétuo (ZACHOS et al., 2001).

Dentre os principais eventos de resfriamento que ocorreram ao longo do tempo geológico, podemos citar o desastre climático desencadeado pela evolução da fotossíntese (Paleoproterozóico – 2,5-1,6 Ga.) (KOPP et al., 2005), a hipótese Terra Bola de Neve (Criogeniano – 850-635 Ma.) (MEERT & TORSVIK, 2003), Era do Gelo Paleozóica (325-290 Ma.) (FIELDING et al., 2008) e a Glaciação Antártica (Eoceno/Oligoceno – 38-28 Ma.) (KATZ et al., 2011).

Os eventos glaciais do Pleistoceno, época que dá início ao período Quaternário, diferentemente dos que o precederam, não foram causados pela deriva dos continentes como a Era do Gelo Paleozóica e a Glaciação Antártica, por exemplo. Ao invés disso, as reversões climáticas do Pleistoceno foram provocadas por mudanças na interceptação e absorção da radiação solar pela superfície da Terra, devido às mudanças em sua órbita (BROWN & LOMOLINO, 2006). Grande parte da maior mudança de frequência no clima, principalmente observada entre 10^4 e 10^5 anos, foi gerada por oscilações periódicas e quase-periódicas nos parâmetros orbitais de excentricidade, obliquidade e precessão que afetaram a distribuição e a quantidade de energia solar incidente na superfície terrestre (ZACHOS et al., 2001) (Figura 1).

Existe, evidentemente, a predominância de eventos cíclicos durante o Pleistoceno, caracterizados anteriormente como de terceira ordem, tanto do ponto de vista temporal quanto da amplitude térmica das flutuações. Entretanto, devemos ter em mente que esses domínios de diferentes magnitudes temporais e amplitudes de temperatura se sobrepõem, e numerosos processos correspondem a uma transição entre duas ordens de grandeza (POMEROL et al., 2013).

Assim, o Quaternário é um período marcado por grandes pulsações climáticas, com longos intervalos de tempo geológico sob regime glacial intercalados com curtos períodos mais quentes (SALGADO-LABOURIAU, 1994; 1997), onde grandes transformações na paleovegetação se deram em consequência dessas oscilações climáticas. Essas mudanças são evidenciadas em muitos estudos em escala global (DENTON et al., 1989; KOCH & BARNOSKY, 2006), envolvendo diferentes táxons (DAVIS & SHAW, 2001), trabalhos restritos aos Neotrópicos (GENTRY, 1982; PENNINGTON et al., 2000), ao continente sul-americano (VAN DER HAMMEN, 1974) e ao Brasil (LEDRU, 1996; BEHLING, 1998; BEHLING & NEGRELLE, 2001).

Em suma, essas diversas evidências apontam para uma tendência geral de mudança ambiental na região sul do continente sul-americano passando de climas quentes e úmidos sem sazonalidade para um clima frio e seco com sazonalidade definida (ORTIZ-JAUREGUIZAR & CLADERA, 2006). Essa transição climática foi concomitantemente acompanhada pela expansão dos campos de gramíneas durante o Pleistoceno (VAN DER HAMMEN, 1974), sugerindo que em regiões tropicais consideráveis da América do Sul prevaleciam um clima muito mais seco durante essa

época. Ainda, a série de transições de ciclos úmidos-áridos durante o Quaternário modificariam drasticamente e repetidamente os padrões da vegetação durante o Quaternário (VUILLEUMIER, 1971).

Paleo-Distribuição das Formações Florestais

O clima e a vegetação ao longo de tempos pretéritos são comumente reconstruídos por meio estudos litoestratigráficos e palinoestratigráficos. Localizada na Bacia Hidrográfica do Alto Rio Paraná (SP, PR e MS) está uma unidade litoestratigráfica denominada Alogrupo Alto Rio Parana (Figura 2). Composta pela Aloformação Paranaíba e pela Aloformação Paraná, essa unidade apresenta testemunhos de mudanças paleoclimáticas e/ou atividades neotectônicas registrados em eventos de sedimentação durante o Quaternário, causando flutuações nos níveis de base com consequentes transformações do relevo (SALLUN & SUGUIO, 2007).

Dentro da área de ocorrência do Alogrupo Alto Rio Paraná, evidências litoestratigráficas do *Grupo Caiuá* (Figura 3) demonstram um padrão deposicional eólico de sedimentação com presença de estruturas cruzadas planares de grande porte e alto ângulo de mergulho, sugerindo condições climáticas de extrema aridez (*Fácies Porto Rico*). Apesar desse ambiente desértico generalizado, ocorriam bacias restritas e localizadas que permitiam o estabelecimento de pequenos lagos lentamente colmatados pelos sedimentitos oriundos das porções mais altas, acarretando a formação de drenagem anastomosada (*Fácies Mamborê*) no final dessa sequência (JABUR & SANTOS, 1984).

O Grupo Caiuá, reúne três unidades de arenitos acumuladas em ambiente desértico, geneticamente relacionadas, correspondentes a sub-ambientes distintos: zona central *de sand sea*, (*Fm. Rio Paraná*), zona de depósitos eólicos periféricos (*Fm. Goio Erê*) e planícies de lençóis de areia (*Fm. Santo Anastácio*) (FERNANDES & COIMBRA, 1994). Em fato, um deserto, denominado Deserto de Caiuá, se desenvolveu durante o Cretáceo Superior cobrindo cerca de 100.000Km² da parte sul da Bacia de Bauru com notável estabilidade de transporte eólico na direção sudoeste (FERNANDES et al., 2007).

Ao menos quatro episódios climáticos são registrados no Quaternário para essa região. Um primeiro episódio de expansão da aridez, correlacionado com o Último Glacial Máximo (LGM), seguido por um primeiro episódio mais úmido, entre 10 e 7,3 mil anos atrás, podem ser identificados ocorrendo no centro-sul do Brasil e no nordeste da Argentina (STEVAUX, 2000). A análise de dados palinoestratigráficos de três sub-bacias (Rio Tibagi, Rio Piquirivai, Umuarama) e amostras da planície aluvial do Rio Paraná na região de Porto Rico revelam que durante o Pleistoceno inferior (entre 2,5 e 1,0 milhão de anos atrás), a região foi dominada por pastagens e savanas sob condições climáticas mais secas que, desde o início do Holoceno, vem sofrendo uma transição generalizada para uma fase úmida, atingindo um “ótimo” climático em cerca de 5 mil anos atrás (STEVAUX, 1994). Por fim, um segundo período de aridez variando entre 3,5 e 1,5 mil anos atrás também é identificado no centro-sul do Brasil e no nordeste da Argentina, encerrando em um segundo período úmido que se estende até os dias atuais (STEVAUX, 2000).

Registros paleopalinológicos da Planície Atlântica sugerem que condições mais frias e mais secas durante o Pleistoceno tenham provocado a substituição de grandes áreas de Floresta Atlântica por pastagens subtropicais e savanas (BEHLING & NEGRELLE, 2001). Podemos observar esse fato através de alguns relictos em enclaves de vegetação xerófila que resistiram localmente à mudança para climas mais úmidos dos últimos 12 mil anos (AB’SÁBER, 2003). Eles parecem indicar os principais eixos dos grandes caminhos de penetração da semiaridez quaternária na atual América Tropical (SILVA, 2011). Evidência desse cenário é o atual padrão de distribuição de cactáceas terrestres em áreas de Florestas Tropicais Sazonalmente Secas (FTSS) separadas por áreas de Cerrado (Figura 4), indicando que durante o Pleistoceno elas estariam mais difundidas pelo atual bioma Cerrado (PENNINGTON et al., 2000).

Atualmente, as FTSS do leste da América do Sul ocorrem como núcleos grandes e bem definidos (como a Caatinga no Nordeste) e enclaves menores dentro de outras vegetações (como o Cerrado e o Chaco). Entretanto, Caetano et al. (2008) apresentam argumentos que favorecem a existência de uma formação previamente mais contínua de FTSS.

Contudo, apesar de um aumento nos esforços de investigação nos últimos anos, o conhecimento sobre a história evolutiva da Mata Atlântica ainda é limitado. Os estudos filogeográficos com plantas têm mostrado descontinuidades genéticas na parte central da Mata Atlântica (região entre o sul do Espírito Santo e Norte do Rio de Janeiro (RAMOS et al., 2009; RIBEIRO et al., 2011), apontando que esse bioma possui uma história complexa, uma vez que múltiplas linhagens distintas podem ser reconhecidas em organismos distribuídos neste domínio fitogeográfico (RIBEIRO et al., 2011; TURCHETTO-ZOLET et al., 2012). Entretanto, grande parte da discussão concentrada no postulado dos períodos secos na América do Sul durante o Pleistoceno tem focado nas consequências das contrações das florestas úmidas, e pouca atenção tem sido dada à influência dessas mudanças climáticas na expansão de vegetações semidecíduais e decíduais da região (PRADO & GIBBS, 1993).

Refúgios Pleistocênicos Neotropicais

Pioneiro na tentativa de expandir o conceito de refúgios para a Floresta Amazônica, Haffer (1969) iniciou uma longa discussão sobre a origem da variação da distribuição de espécies tropicais entre os períodos glaciais e interglaciais. Seu postulado sugere que durante os vários períodos climáticos secos do Pleistoceno e pós-Pleistoceno, a Floresta Amazônica apresentou uma retração, se dividindo em pequenas florestas isoladas entre si por extensões de áreas abertas de vegetação não-florestal. Esses remanescentes florestais serviram então, como “áreas de refúgio” para numerosas populações florestais de animais, que divergiram umas das outras durante o isolamento geográfico. Quando as florestas isoladas foram novamente conectadas durante os períodos climáticos úmidos, re-ampliando a cobertura florestal, as populações anteriormente confinadas aos refúgios, puderam então, ampliar sua distribuição.

Na busca de melhores interpretações, comumente tem-se buscado respostas para essas oscilações nos denominados refúgios. Apesar do grande debate em torno desse tema (BENNETT & PROVAN, 2008), as pesquisas têm contribuído para elucidar a dinâmica e complexidade das respostas dessas vegetações (GARCIA et al., 2011; COLLEVATTI et al., 2015; FRANCO et al., 2017), mostrando que o tema dos refúgios é relevante para muitas áreas de ecologia e biologia evolutiva. Porém, devemos sempre considerar que a natureza individualista das respostas das espécies

às mudanças climáticas implica que a localização dos refúgios varia de acordo com o clima, bem como as adaptações individuais das espécies ou populações (STEWART et al., 2009).

Teoria do Arco Pleistocênico

Essa nova interpretação florística e ecológica das Florestas Tropicais Sazonalmente Secas sul-americanas levou à proposta da chamada “Teoria do Arco Pleistocênico”. A Teoria do Arco Pleistocênico sugere que os atuais fragmentos disjuntos das FTSS do centro da América do Sul tropical evidenciam uma distribuição anterior mais contínua durante ciclos climáticos frios e secos do Pleistoceno que foi interrompida por ciclos quentes e úmidos (MOGNI et al., 2015). Dado o fato de um número considerável de taxa de plantas endêmicas em nível genérico e específico, Prado (2000) propõe, inclusive, que essas formações florestais estejam em uma nova unidade fitogeográfica para a América do Sul, denominada Região das Florestas Sazonais Tropicais.

Prado & Gibbs 1993, apontam que numerosas espécies lenhosas, que estariam envolvidas nos ciclos migratórios de expansão-retração do Pleistoceno, compõem hoje diversas comunidades tropicais e subtropicais de florestas secas na América do Sul, como as Caatingas do nordeste brasileiro e muitas florestas semidecíduais nos estados de São Paulo e Paraná. Essas espécies revelam vínculos florísticos entre a flora da Caatinga, no semiárido nordestino brasileiro, Misiones (Brasil/Bolívia) e Piedemonte (Bolívia/Argentina) (Figura 5). Entretanto, Mayle (2004) indica que, apesar dos dados limitados de pólen disponíveis, as FTSS da idade glacial, independentemente da sua distribuição, eram floristicamente muito diferentes das atuais, com espécies-chave típicas de floresta seca, como *Anadenanthera* spp., surgindo apenas no Holoceno. Esse padrão sugere uma explicação mais parcimoniosa através da migração populacional (talvez por dispersão à longa distância) desde o Último Glacial Máximo, em detrimento da hipótese de vicariância proposta por Prado & Gibbs (1993).

Após mais de 20 anos da criação da Teoria do Arco Pleistocênico, através do mapeamento de cinco espécies lenhosas de Leguminosae (*Anadenanthera colubrina*, *Enterolobium contortisiliquum*, *Pterogyne nitens*, *Amburana cearensis* e *Piptadenia*

viridiflora), as evidências acumuladas parecem confirmar a integridade das províncias fitogeográficas do Chaco e das Caatingas, suportando também, o padrão de conexão em arco (MOGNI et al., 2015). Esses resultados corroboram os núcleos pré-existent de FTSS sul-americanos (Caatingas, Misiones e Piedmonte) e, postula um quarto núcleo (Núcleo Chiquitanía) localizado no sudeste da Bolívia e fronteira com o Paraguai. No entanto, as relações climáticas podem ter tido efeitos mais complexos do que produzir um arco Pleistocênico simples de FTSS (NEVES et al., 2015) como sugerem estudos paleoecológicos.

Estudos filogeográficos Neotropicais

Muito esforço vem sendo colocado para compreender os complexos e altos níveis de biodiversidade na América do Sul e estudos filogeográficos com grupos sul-americanos podem fornecer informações valiosas sobre os processos históricos subjacentes da diversificação nessa região (TURCHETTO-ZOLET et al., 2012). Através de análises moleculares baseadas em variações nas sequências de nucleotídeos, a filogeografia vem procurando interpretar a extensão e a forma pela qual os processos históricos, relacionados à demografia populacional, podem ter deixado pegadas evolutivas nas distribuições geográficas contemporâneas (AVISE, 2000). Esses estudos têm sido utilizados para investigar os efeitos das mudanças climáticas passadas sobre a estrutura genética de espécies animais e vegetais, permitindo assim, fazer inferências sobre a evolução das espécies dentro de seus biomas e ajudando no planejamento estratégico de conservação (RAMOS et al., 2007).

Uma recente revisão (LEAL et al. 2016) demonstrou que foram publicados 41 trabalhos de filogeografia em plantas entre 1999 e 2016 envolvendo a região Neotropical. Dentre eles, os domínios fitogeográficos brasileiros mais estudados estão o Cerrado (34,1%) e a Floresta Atlântica (17,1%). Esses trabalhos demonstraram que ambos os biomas tiveram sua vegetação afetada de diferentes formas pelas oscilações climáticas do Pleistoceno.

Investigações sobre a diversidade populacional de grupos de plantas na parte central da Floresta Atlântica sugerem que repetidos eventos de vicariância, resultando na diferenciação genética de linhagens, são decorrentes de mudanças climáticas

passadas com ciclos de expansão e contração florestal (RIBEIRO et al., 2011). Esses ciclos de climas mais secos e frios, que remontam ao Pleistoceno, podem ter levado à extinção de algumas populações e determinado diferentes rotas de colonização para as linhagens (NOVAES et al., 2010). O arbusto medicinal *Carapichea ipecacuanha*, com distribuição disjunta nas regiões Atlântica e Amazônica brasileiras, associado principalmente a sub-bosques das Florestas Sazonais Semidecíduais, demonstrou uma complexa estrutura filogeográfica, indicando a persistência a longo prazo das populações na faixa Atlântica, diferentemente das linhagens amazônicas que sugerem uma expansão recente de uma única fonte parental após um forte gargalo genético (DE OLIVEIRA et al., 2010).

Apesar da complexidade e diversidade de respostas dos organismos vegetais estudados na Floresta Atlântica Semidecidual e formações associadas, as linhagens desse domínio têm apontado para um padrão geral de expansão populacional, especialmente após o último glacial máximo (LGM) no final do Pleistoceno (LEAL et al., 2016).

Padrões similares aos observados nos organismos vegetais também foram observados em animais ao longo da Floresta Atlântica. Populações de vertebrados localizadas na região sudeste do Brasil apresentaram grau de estruturação genética muito heterogêneo e com número efetivo (N_e) menor em relação às populações observadas mais ao norte (em torno do Rio Doce) (MARTINS, 2011). Embora esse padrão de divergência/expansão, datados da época do Pleistoceno, ser observado em praticamente todos os organismos estudados, Martins (2011) concluiu que a existência de estruturação filogenética na Floresta Atlântica não pode ser atribuída a um único evento ou processo. Muitos fatores, incluindo os refúgios pleistocênicos, transgressões e regressões marinhas (LEITE et al., 2016) e atividade tectônica podem ter sido responsáveis por moldar a distribuição atual das linhagens.

Uso de epífitas vasculares em estudos sobre a dinâmica Paleo-Floresta Tropical.

As epífitas apresentam estrita dependência mecânica da comunidade arbórea para seu estabelecimento e são diretamente afetadas pelas transformações que as florestas são submetidas (ZOTZ, 2016). Estudos combinando dados filogenéticos,

preferências por habitat, diversidade morfológica e biogeografia de epífitas, além de necessários a fim de compreender melhor os processos envolvidos na evolução destes (CALVENTE et al., 2011), podem servir como modelo para trazer respostas mais consistentes sobre como formações florestais, como a Mata Atlântica, responderam às variações ambientais de climas passados.

Um estudo abrangente com diversas populações de uma espécie de bromélia (*Vriesea gigantea*) com epifitismo facultativo ao longo da faixa litorânea da Floresta Atlântica demonstrou uma forte correlação negativa entre diversidade genética e a latitude onde essas populações se encontram (PALMA-SILVA et al., 2009). Uma profunda divisão filogeográfica foi encontrada entre populações dos estados brasileiros de São Paulo e Rio de Janeiro, evidenciando descontinuidades genéticas na parte central da Floresta Atlântica. Esse padrão também foi observado por outros trabalhos (RAMOS et al., 2009; RIBEIRO et al., 2011), demonstrando que, populações ao sul parecem ter sido moldadas pela recente expansão e colonização dessa região após o Último Glacial Máximo.

A maioria dos trabalhos realizados na Floresta Atlântica tem demonstrado dois padrões característicos. (1) Disjunções genéticas indicam que possíveis barreiras geográficas estejam comprometendo o fluxo genético entre populações distribuídas latitudinalmente (PALMA-SILVA et al., 2009; PINHEIRO et al., 2013) e (2) uma expansão demográfica recente em populações localizadas mais ao sul parece estar associada às oscilações climáticas do Pleistoceno (PALMA-SILVA et al., 2009; RIBEIRO et al., 2011).

A atual distribuição das espécies do gênero *Lepismium* também parece ter sido influenciada pelos ciclos de expansão e retração dos biomas úmidos decorrentes das oscilações climáticas do Pleistoceno. As reconstruções biogeográficas sugerem que a atual distribuição disjunta do gênero pode estar relacionada a alguns eventos de dispersão de longa distância pelas florestas do Paraná. Entretanto, a diversidade dos cactos epifíticos neotropicais aparenta ter origem em diversos processos ecológicos e evolutivos complexos (MORENO, 2015).

Embora muitas questões sobre a dinâmica das respostas da Floresta Atlântica frente às mudanças climáticas pretéritas estejam sendo elucidadas, mais estudos que

incluam taxa da porção sul da Floresta Atlântica devem ser conduzidos. Em particular, taxas com padrão de distribuição geográfica Leste-Oeste na Floresta Atlântica (GOETZE et al., 2016).

Este trabalho procurou compreender melhor os efeitos das oscilações climáticas do Quaternário nos padrões de distribuição do domínio fitogeográfico da Floresta Atlântica utilizando uma espécie de cactácea epifítica (*Lepismium cruciforme*) como modelo biológico. Através de análises filogeográficas, esperamos responder as seguintes questões: a) Podemos identificar múltiplas linhagens de *L. cruciforme* entre diferentes populações localizadas na Floresta Estacional Semidecidual? b) Caso detectadas, essas diferentes linhagens estariam associadas a algum tipo de isolamento geográfico? c) As populações de *L. cruciforme* sofreram oscilações demográficas históricas? d) Existe um gradiente longitudinal continente/oceano de diversidade genética?

MATERIAL E MÉTODOS

Modelo Biológico

A seleção do modelo biológico foi realizada seguindo alguns critérios. Dentre os representantes da família Cactaceae, foi realizada uma pesquisa nos bancos de dados de herbários digitais disponíveis no site do projeto *speciesLink*, buscando potenciais espécies que possuíssem ampla distribuição geográfica e maiores números de coletas registradas. Em seguida, descartamos as espécies que são mais comumente utilizadas para fins ornamentais, como é o caso de grande parte dos membros da tribo Rhipsalideae e Hylocereeae, sobretudo dos gêneros *Schlumbergera*, *Epiphyllum*, *Hatiora* e *Rhipsalis* (CHALAKKAL, 2012).

Até a publicação deste trabalho, *Lepismium cruciforme* demonstrou ser o modelo biológico que mais correspondeu aos critérios de escolha. Com 439 registros no banco de dados do *speciesLink*, é a terceira espécie de cacto epifítico mais depositada em coleções, ficando atrás apenas de *Rhipsalis teres* (686) e *Rhipsalis floccosa* (458). Apesar de *Lepismium houlettianum* deter uma amostragem semelhante à de *L. cruciforme*, com 430 registros, sua distribuição geográfica

aparenta ser mais restrita e possui características morfológicas muito atrativas para fins ornamentais (LOMBARDI, 1995).

Popularmente conhecido como canambaia ou rabo-de-rato – na região sul do país – *Lepismium cruciforme* (Vellozo) Miquel, Bull. Sci. Phys. Néerl 1: 49 (1838) é descrita por Bruxel & Jasper (2005), como uma planta epífita, pendente, de ramificação mesotônica, com até 1m de comprimento. Artículos angulados com 3-5 costelas, oblongos, alados, coloração variando do verde ao vermelho, conforme a insolação recebida. Aréolas imersas, com presença de pêlos abundantes de até 5mm comprimento, cinzentos a brancos. Flores laterais, solitárias ou em curta inflorescência, emersas na aréola, 0,7-1,3cm comprimento, cor creme, branca a rosada, tépalas 10; estilete emergente, róseo-avermelhado, estigma com 2-6 lóbulos. Fruto baga, vermelho-brilhante, de 5-7mm diâmetro. Sementes pretas, numerosas e obovadas (Figura 6).

No Brasil, a espécie tem registros de ocorrência ao longo de toda a Floresta Atlântica, incluindo as regiões Nordeste (PE, BA), Centro-Oeste (MS), Sudeste (MG, ES, SP, RJ) e Sul (PR, SC, RS), com distribuição nativa e não-endêmica (ZAPPI et al., 2010). No âmbito Neotropical, além da Floresta Atlântica, ocorre também em localidades inseridas no Chaco (Argentina), Paraguai, Bolívia e Uruguai (BARTHLOTT & TAYLOR, 1995; EGGLI et al., 2008; MORENO et al., 2015). Esse padrão de distribuição reflete a história evolutiva da tribo (Rhipsalideae DC, 1828) que aponta para dois centros de diversidade localizados no Leste da Bolívia e Sudeste do Brasil (KUBITZKI, 1993).

Amostragem

A amostragem cobriu grande parte da distribuição longitudinal da espécie na Mata Atlântica ao longo dos estados de São Paulo e do Paraná. Foram amostrados 71 indivíduos de oito localidades com distância entre si de no mínimo 71Km, sendo a maior distância 537Km (Tabela 1). Dentre as localidades, destacamos quatro populações coletadas em Unidades de Conservação localizadas no Paraná (EE Caiuá PE Vila Velha) e São Paulo (EE Caetetus e PE Morro do Diabo), duas populações oriundas de coleções vivas cedidas pela Universidade Estadual de Maringá (Parque do Ingá – em Maringá e Tibagi – resgatadas da área de inundação da UHE-Mauá

entre os municípios Telêmaco Borba e Ortigueira) e duas populações coletadas em praças e parques dentro do perímetro urbano das cidades de Piracicaba – SP e Curitiba – PR.

Extração de DNA, amplificação, sequenciamento e alinhamento

A extração de DNA foi realizada com o protocolo CTAB modificado para tecidos de plantas que apresentam difícil isolamento de material genético (TEL-ZUR et al., 1999)(APENDICE A). Foram testados sete marcadores moleculares plastidiais (*psbA-trnH*, *rpl16*, *rps16-trnK*, *rpl32-trnL*, *trnQ5'-rps16*, *trnS-trnG*, *trnV-ndhC*) e uma região nuclear (*ITS*) a partir de trabalhos prévios utilizando a espécie de estudo (SHAW et al., 2005; SHAW et al., 2007; CALVENTE et al., 2011; KOROTKOVA, 2011; MORENO, 2015), além de duas regiões (*rps4-trnT* e *trnL-trnF*) selecionadas para testes adicionais (APENDICE B). Um indivíduo de quatro populações diferentes (PE Vila Velha, Piracicaba, Maringá e EE Caetetus) foi escolhido para verificar a existência de polimorfismos. Entretanto, não foi possível amplificar a região *rpl32-trnL* e todos os demais marcadores plastidiais não apresentaram polimorfismos para serem analisados. Sendo assim, a região nuclear *ITS* foi a única que se mostrou interessante para nossos estudos. A região nuclear *ITS* (17SE-26SE) (SUN et al. 1994) foi amplificada a partir da adaptação do protocolo descrito por Calvente et al. (2011) para membros da tribo Rhipsalideae (CACTACEAE) com reações de 20uL contendo: 2,0uL de tampão de PCR, 2,0uL de BSA (Bovine Serum Albumin, 50mg/mL), 1uL de MgCl₂, 1,6uL de dNTPs, 1,0uL de primer Forward, 1,0uL de primer Reverse, 0,8uL de DMSO, 0,4 de Taq DNA Polimerase, 10,4uL de H₂O e 0,8uL da amostra de DNA produto da extração. O passo inicial de denaturação se deu à 94°C por dois minutos, seguido por 28 ciclos de 94°C durante um minuto, 52°C durante um minuto e 72°C durante três minutos, terminando com um passo de extensão final a 72°C por sete minutos.

Amostras amplificadas foram enviadas para o serviço de sequenciamento oferecido pela Macrogen Korea acompanhadas de seus respectivos iniciadores. As sequências foram tratadas com o programa Geneious 9.1.6 (KEARSE et al., 2012) e alinhadas no programa MEGA 6 (TAMURA et al., 2013) utilizando o algoritmo *Muscle* (EDGAR, 2004), inspecionando visualmente cada sequência.

Diversidade genética e estrutura populacional

As análises de diversidade genética e estrutura das populações foram realizadas através do programa ARLEQUIN 3.5 (EXCOFFIER & LISCHER, 2010). Os índices de diversidade nucleotídica (π), diversidade haplotípica (H), número de sítios variáveis (S), foram estimados através das médias pareadas considerando cada uma das oito populações como um grupo e incluindo todas em um único grupo. A estrutura populacional foi medida através da diferenciação genética entre as populações (índice de fixação – F_{ST}) (WRIGHT, 1978) realizada a partir da análise de variância molecular AMOVA (EXCOFFIER et al., 1992) com 10^3 permutações. O índice de fixação foi utilizado para verificar a correlação entre distâncias genéticas e geográficas com o teste de *Mantel* (1967) com 10^4 permutações. A dissimilaridade foi medida entre matrizes de correlação de distância geográfica (log Km) e diferenciação genética entre as populações (F_{ST}), com 10^4 permutações.

Reconstrução dos haplótipos e padrões demográficos

A partir das sequências alinhadas, as posições nucleotídicas heterozigóticas foram resolvidas utilizando os algorítmicos fornecidos pelo PHASE 2.1 (STEPHENS et al., 2001; STEPHENS & DONNELLY, 2003). Os haplótipos foram gerados utilizando o programa DnaSP v5 (LIBRADO & ROZAS, 2009). Os sítios com lacunas e ausência de dados foram considerados e sítios invariáveis foram removidos. Para entender as relações filogenéticas entre os haplótipos, foi gerada uma rede de haplótipos utilizando a análise de agrupamento “median-joining” no programa NETWORK 4.6.1.5 (FORSTER et al., 2005). Os padrões demográficos foram inferidos através de três análises utilizando informações da distribuição das frequências de mutações (Tajima's D e R_2) e sobre a distribuição haplotípica (Fu's F_s). Os testes de neutralidade de Tajima (1989) e de Fu (1997) foram realizados no programa ARLEQUIN 3.5 (EXCOFFIER & LISCHER, 2010), enquanto que o R_2 de Ramos-Onsins e Rozas (1997), foi analisado no programa DnaSP v5 (LIBRADO & ROZAS, 2009).

RESULTADOS

Diversidade genética

O sequenciamento da região nuclear (*ITS*) gerou 71 sequências com 638pb. As populações apresentaram grande variação tanto na diversidade haplotípica quanto nucleotídica (Tabela 2). Os maiores valores de diversidade haplotípica e nucleotídica foram encontrados nas populações do PE Morro do Diabo ($Hd = 0.7333$; $Pi = 0.002020$), PE da Vila Velha ($Hd = 0.6593$; $Pi = 0.002067$) e EE de Caiuá ($Hd = 0.6154$; $Pi = 0.009094$). Enquanto que, os menores valores foram observados nas populações dos parques urbanos de Maringá e Piracicaba ($Hd = 0.0000$ e $Pi = 0.000000$ para ambas). Os valores de diversidade genética geral registrado para a espécie foram $Hd = 0.3057$; $Pi = 0.001819$.

Estrutura populacional

A análise de variância molecular AMOVA revelou significativa diferenciação genética entre as populações ($F_{ST} = 0.231$; $p = 0.000$) (Tabela 3), sendo o maior acúmulo de variação encontrado dentro das populações (76.86%) do que entre essas populações (23.14%). Quando comparadas par a par, fica evidente que a população que mais se distancia geneticamente das demais é a da EE Caiuá. Os valores de F_{ST} observados, de acordo com Hartl & Clark (2010) variam de alto ($F_{ST} = 0.20699$; $p = 0.00743 \pm 0.0008$) à muito alto ($F_{ST} = 0.346887$; $p = 0.00040 \pm 0.0002$) (Tabela 4). Nesse sentido, também se destacam o PE do Morro do Diabo e o PE da Vila Velha, acumulando diferenciação significativa em relação à outras populações. O teste de *Mantel* mostrou não haver correlação significativa entre distância geográfica e diferenciação genética ($r = 0.119$; $p = 0.255$) entre as populações (Figura 7).

Reconstrução dos haplótipos e padrões demográficos

Foram encontrados nove haplótipos, sendo que um haplótipo (H1) se revelou mais comum, estando amplamente distribuído por todas as populações amostradas (Figura 8). O segundo haplótipo (H2) mais frequente foi observado em três populações localizadas na porção central da região amostrada (Figura 9). Regiões amostradas mais a noroeste e sudeste revelaram abrigar maior número de haplótipos em suas populações em relação à populações localizadas na porção central e nordeste. Ambos

os testes utilizando informações da distribuição das frequências de mutações (*Tajima's D* e R_2) foram significativos ($D = -2.052$; $p = 0.001$ e $R_2 = 0.0245$; $p = 0.01503$) e potencialmente indicam um padrão de expansão demográfica ou um afastamento da neutralidade para a espécie (Tabela 5).

DISCUSSÃO

O padrão mais conspícuo revelado pelos resultados demonstra a existência de uma estruturação genética acentuada em populações localizadas à Noroeste, próximas à confluência dos rios Paranapanema e Paraná. Essa região, conhecida como Pontal do Paranapanema demonstrou concentrar a maior diversidade genética, incluindo a maior parte dos haplótipos observados. Tendo em vista a alta diferenciação genética e a posição em lados opostos do Rio Paranapanema da EE Caiuá e PE Morro do Diabo, podemos sugerir que: (1) neste caso, o rio possa estar atuando como uma importante barreira ao fluxo genético (CAZÉ et al., 2016), comprometendo a movimentação (HAYES & SEWLAL, 2004) e impondo limitações na distribuição de espécies (PELLEGRINO et al., 2005) potenciais para transporte de propágulos, refletindo numa (2) baixa eficiência de polinizadores e dispersores (LEVIN & KERSTER, 1967; SCHUPP et al., 2010).

Outro núcleo de diversidade é observado à sudeste no PE da Vila Velha, localizado na região dos Campos Gerais. Apesar de porções de florestas de araucária se tornarem mais frequentes nos planaltos dessa região a partir do Holoceno Superior, a paisagem remonta à um mosaico de campos abertos de gramíneas e florestas de araucárias (BEHLING, 1998). Parece pouco provável que tenha havido uma distribuição mais contínua entre essas porções de vegetação florestal em tempos pretéritos, tendo em vista a recente mudança para um clima mais úmido a partir do Holoceno (BEHLING & NEGRELLE, 2001; MORO et al., 2004). Esse cenário, associado aos padrões de diversidade genética obtidos, sugere que esta população possa estar em um refúgio florestal (BENNETT & PROVAN, 2008). Com a colonização dessa região, a população encontrou restrição para o fluxo gênico, resultando na intensificação da deriva genética e favorecendo à fixação de diferentes alelos.

O padrão geral de baixos valores de diversidade genética observados para a espécie (Tabela 2) sugere que, no passado, suas populações foram significativamente

reduzidas, afetando negativamente sua diversidade. Essa interpretação é sustentada pelos testes de neutralidade de Tajima' D e R_2 de Ramos-Onsins & Rozas que sugerem um cenário de expansão pós-gargalo. Mudanças demográficas como gargalos (*bottleneck*) e/ou recentes expansões populacionais são esperadas para espécies florestais, como também foi observado para *Aechmea calyculata* (GOETZE et al., 2016). A rede de haplótipos, com topologia de estrela, também demonstra sinais dessa expansão recente. Ainda, a presença de ramos terminais longos com mutações acumuladas nas linhagens do Pontal do Paranapanema e dos Campos Gerais, apontam para essas duas regiões como sendo os centros de diversidade genética para *L. cruciforme* e, provavelmente sua distribuição geográfica mais antiga (EXCOFFIER et al., 2009).

Essas duas linhagens podem ter sido originadas a partir dos ciclos de expansão e retração das florestas subtropicais típicas do Pleistoceno e avançado em direção ao norte por dois arcos de dispersão: um acompanhando a calha do rio Paraná e outro, próximo à Serra do Mar. O último ancestral comum compartilhado entre *L. cruciforme* e *L. houlettianum* estava nas florestas do Paraná durante o final do Neogeno, tendo o nó *Lepismium* começado a se diversificar no Mioceno Superior, à aproximadamente 8.70 M.a. (MORENO et al., 2015). O primeiro episódio com aumento de umidade testemunhado pela região do Pontal do Paranapanema data de 8,0 a 3,5 mil anos atrás (STEVAUX, 2000), sendo que a colonização das primeiras espécies arbóreas (ARECACEAE e MYRTACEAE) se deu durante Pleistoceno Superior. Somente durante o Holoceno é que as vegetações de floresta de araucária, latifoliada e de savana (STEVAUX, 1994) passaram a ocupar essa região. Da mesma forma, registros da Lagoa Dourada, no PE da Vila Velha, indicam que durante o Pleistoceno Superior, a região dos Campos Gerais passava por um período seco e frio (MORO et al., 2004). Na transição para Holoceno, os campos cobriam amplas áreas dessa paisagem, confinando em vales, de maneira esparsa, as florestas de araucárias e florestas tropicais (podendo ter havido uma mistura entre Florestas de Araucária e Tropical nos vales) (BEHLING, 1998). Ao longo do Holoceno, o aquecimento do clima cessou a ocorrência de geadas, favorecendo uma pequena expansão das florestas de araucária dos vales para os planaltos, enquanto que florestas tropicais ampliaram sua distribuição ao longo dos vales com disponibilidade de umidade suficiente (BEHLING, 1998).

A elevada estruturação genética encontrada para a espécie, associada a não existência de um isolamento por distância, sugere que o baixo fluxo gênico tenha acentuado a deriva, fazendo com que as populações acumulassem diferenças de forma aleatória, inclusive entre populações muito próximas, como é o caso da EE Caiuá e o PE do Morro do Diabo – distância euclidiana de pouco mais de 70Km, que possuem composição genética completamente discrepantes. Um resultado similar é observado em populações de inselbergs que remontam um antigo e alto grau de isolamento, onde o restrito fluxo gênico por sementes e a deriva genética são os principais agentes de diversificação (PINHEIRO et al., 2014).

A dificuldade encontrada para identificar regiões plastídicas que apresentassem polimorfismos pode indicar maior similaridade genética, portanto menor estruturação entre essas populações, em relação aos valores observados para a região nuclear. Caso essa inferência seja suportada, *L. cruciforme* estaria apresentando um padrão incomum de fluxo gênico através de sementes maior em relação à dispersão via pólen (HAMILTON & MILLER, 2002; PETIT et al., 2005; GOETZE et al., 2016). Entretanto, são necessários mais esforços para o estudo da diversidade genética plastídica de *L. cruciforme*, como obter sucesso na amplificação da região plastídica *rpl32-trnL^(UAG)*, apontado como um dos mais informativos para estudos populacionais (SHAW et al., 2014).

Os mecanismos de dispersão para *L. cruciforme* ainda não foram estudados. A coloração creme-rósea de suas flores, morfologia radial, em forma de sino, sem odor, indicam que estas são potencialmente polinizadas por abelhas (ALMEIDA et al., 2013). Porém, seus potenciais dispersores de sementes ainda são desconhecidos. Parece ser uma regra que epífitas tenham seus próprios conjuntos de dispersores aviários, que são mais ou menos especializados para esses frutos (SNOW, 1981). Espécies do gênero *Rhipsalis* tem requisitos específicos para o estabelecimento de suas plântulas e as aves do gênero *Euphonia* são dispersores eficazes de suas sementes tanto em aspectos quantitativos como qualitativos (GUARALDO et al., 2013). Com frutos globosos entre 7-11mm de comprimento, esverdeados quando imaturos, tornando magenta à vermelho escuro quando maduros (EGGLI et al., 2008), *L. cruciforme* pode se enquadrar dentro do tipo de fruto apreciado por passarines como pintassilgos e gaturamos (Fringilidae)(SNOW, 1981; MOERMOND &

DENSLOW, 1985; GUARALDO et al., 2013). Entretanto, essas relações de frugivoria permanecem incompreendidas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A expansão demográfica recente observada para a espécie parece indicar que a expansão das florestas após o Holoceno também tem favorecido as populações de *L. cruciforme*, embora não tenha sido possível datar o evento de expansão populacional para a espécie. A presença de duas linhagens altamente diversificadas, em relação as demais, nas regiões do Pontal do Paranapanema e dos Campos Gerais não parecem resultar de eventos associados a hipótese do Arco Pleistocênico. Essas regiões parecem ter sido colonizadas pelas linhagens de *L. cruciforme* a partir do Holoceno. Sua alta estruturação genética pode ser explicada pelo resultado de um gargalo populacional seguido de uma recente expansão demográfica, onde o baixo fluxo gênico entre essas populações intensificou a deriva genética. Por fim, as populações da região central e nordeste da área de coleta, podem estar refletindo baixos valores de diversidade genética em função do efeito fundador.

Diferentes pressões ambientais parecem ter atuado na diversificação das duas linhagens distintas identificadas. As populações à Noroeste parecem ter sido mais fortemente influenciadas pela imposição de uma barreira fluvial, separando duas linhagens distintas em cada lado do rio (EE Caiuá – PR e PE Morro do Diabo – SP). Por outro lado, populações à sudeste possivelmente refletem um histórico de confinamento à refúgios florestais próximos à encostas e margens de corpos d'água cercados por vegetação aberta de campos de gramíneas.

Não foi observado sinais um gradiente longitudinal continente/oceano de diversidade genética (STEWART et al., 2009). Em vez disso, pudemos observar maiores valores diversidade genética em linhagens localizadas em regiões extremas da distribuição longitudinal, contrapondo com diversidades mais baixas nas regiões centrais da distribuição amostrada. Uma provável explicação para este padrão pode ser a amostragem insuficiente da ampla distribuição geográfica que *L. cruciforme* possui. Neste trabalho foram amostradas populações que ocorrem em áreas de Floresta Estacional Semidecidual, porém a espécie também possui registros para a região litorânea da Floresta Atlântica (ZAPPI et al., 2010), além de localidades

inseridas no Chaco, ocorrendo na Argentina, Paraguai, Bolívia e Uruguai (BARTHLOTT & TAYLOR, 1995; EGGLI et al., 2008; MORENO et al., 2015). Desta forma, os haplótipos detectados neste trabalho, e os padrões de diversidade entre as populações, representam uma pequena amostra da estrutura genética da espécie. Neste cenário, populações que se encontram nos extremos geográficos da nossa amostragem podem, na realidade, representar centros de distribuição da espécie. No futuro será necessário ampliar a amostragem desta espécie, numa tentativa de testar, de modo mais robusto, a existência de gradientes de variação, uma vez que estes padrões são fundamentais para o entendimento sobre a origem de ecótipos adaptados a diferentes condições climáticas, e para um maior entendimento sobre os mecanismos que limitam a distribuição de espécies (ECKERT et al., 2008; GUO et al., 2012).

A espécie demonstrou ser interessante para estudos filogeográficos relacionados à compreensão da dinâmica da Floresta Atlântica diante de mudanças climáticas passadas. Futuras análises filogeográficas envolvendo outras espécies de cactáceas epifíticas, bem como estudos ecológicos envolvendo essas taxa, podem contribuir substancialmente para o entendimento da distribuição florestal – e de biomas associados – ao longo das oscilações climáticas do Quaternário. A importância da preservação de refúgios florestais que incluem, entre outras espécies interessantes, populações disjuntas de *Lepismium cruciforme* e *Rhipsalis crispata*, é apontado como grande ênfase pelo “Programa Plantas do Nordeste” e integra o Plano de Ação Nacional para a Conservação das Cactáceas.

Apesar dos resultados obtidos para *L. cruciforme* demonstrarem um padrão de expansão populacional, que pode estar associado à expansão das florestas tropicais ao longo do Holoceno, ainda é necessária a realização análises adicionais como a Bayesian Skyline Plot (DRUMMOND et al., 2005). Através desse conjunto de análises poderemos obter informações mais robustas sobre a dinâmica dessas populações através do tempo, como a variação do tamanho efetivo e a datação do evento de expansão demográfico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AB'SÁBER, A. **Os Domínios de Natureza no Brasil: Potencialidades Paisagísticas**. 4 ed. São Paulo: Ateliê Editorial, 2003. ISBN 978-85-7480-355-5
- ALMEIDA, O. J. G., COTA-SÁNCHEZ, J. H., PAOLI, A. A. S. The systematic significance of floral morphology, nectaries, and nectar concentration in epiphytic cacti of tribes Hylocereeae and Rhipsalideae (Cactaceae). **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**. 15(5): pp. 255-268. 2013. DOI: [10.1016/j.ppees.2013.08.001](https://doi.org/10.1016/j.ppees.2013.08.001)
- AVISE, J. C. **Phylogeography: The History and Formation of Species**. London, England: Harvard University Press, 2000. ISBN: 9780674666382.
- BARTHLOTT, W. & TAYLOR, N. P. Notes towards a monograph of Rhipsalideae (Cactaceae). **Bradleya**. 13: 43-79. 1995.
- BEHLING, H. Late Quaternary vegetational and climatic changes in Brazil. **Review of Palaeobotany and Palynology**. 99(2): 143–156. 1998. [http://doi.org/10.1016/S0034-6667\(97\)00044-4](http://doi.org/10.1016/S0034-6667(97)00044-4)
- BEHLING, H. & NEGRELLE, R. R. B. Tropical rain forest and climate dynamics of the Atlantic lowland, southern Brazil, during the Late Quaternary. **Quaternary Research**. 56: 383–389. 2001. <http://doi.org/10.1006/qres.2001.2264>
- BENNETT, K. D. & PROVAN, J. What do we mean by 'refugia'? **Quaternary Science Reviews**. Vol 27, pp. 2449-2455. 2008. DOI: [10.1016/j.quascirev.2008.08.019](https://doi.org/10.1016/j.quascirev.2008.08.019)
- BROWN, J. H. & LOMOLINO, M. V. **Biogeografia**. tradução: Iulo Feliciano Afonso ; revisão técnica: Adler Guilherme Viadana ; adaptação: Francisco A. Moura Duarte. 2. ed. rev. e ampl. Ribeirão Preto, SP : FUNPEC Editora, 2006.
- BRUXEL, J. & JASPER, A. A família Cactaceae na Bacia Hidrográfica do Rio Taquari, RS, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**. Vol 19(1), pp. 71–79. 2005. DOI: [10.1590/S0102-33062005000100008](https://doi.org/10.1590/S0102-33062005000100008)
- CAETANO, S. et al. The history of Seasonally Dry Tropical Forests in eastern South America: inferences from the genetic structure of the tree *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). **Molecular Ecology**. Vol. 17 (13), pp. 3147-3159. 2008. DOI: [10.1111/j.1365-294X.2008.03817.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03817.x)
- CALVENTE, A. et al. Molecular phylogeny of tribe Rhipsalideae (Cactaceae) and taxonomic implications for *Schlumbergera* and *Hatiora*. **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 58: 456-468. 2011. DOI: [10.1016/j.ympev.2011.01.001](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.01.001)
- CAZÉ, A. L., et al. Could refuge theory and rivers acting as barriers explain the genetic variability distribution in the Atlantic Forest? **Molecular Phylogenetics and Evolution**. 101: pp. 242-251. 2016. DOI: [10.1016/j.ympev.2016.05.013](https://doi.org/10.1016/j.ympev.2016.05.013)

CHALAKKAL, K. **Trade in Endangered Species**. Cap. 3. In: Yearbook of International Environmental Law. Vol 21:1. pp. 301-310. DOI: [10.1093/yiel/yvs013](https://doi.org/10.1093/yiel/yvs013).

CHANG, C., et al. A holistic picture of Austronesian migrations revealed by phylogeography of Pacific paper mulberry. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)**. 112 (44): 13537-13542. 2015. DOI: [10.1073/pnas.1503205112](https://doi.org/10.1073/pnas.1503205112)

COLLEVATTI, R. G., et al. Relaxed random walk model coupled with ecological niche modeling unravel the dispersal dynamics of a Neotropical savanna tree species in the deeper Quaternary. **Frontiers in Plant Science**. Vol 6. 2015. DOI: [10.3389/fpls.2015.00653](https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00653)

DAVIS, M. B. & SHAW, R. G. Range shifts and adaptive responses to Quaternary climate change. **Science**. New York, N.Y., 292(5517): 673–679. 2001. <http://doi.org/10.1126/science.292.5517.673>

DENTON, G. H., et al. Late Wisconsin and early Holocene glacial history, inner Ross Embayment, Antarctica. **Quaternary Research**. 31(2), 151–182. 1989. [http://doi.org/10.1016/0033-5894\(89\)90004-5](http://doi.org/10.1016/0033-5894(89)90004-5)

DE OLIVEIRA, L. O., et al. Molecular phylogeography of *Carapichea ipecacuanha* an amphitropical shrub that occurs in the understory of both semideciduous and evergreen forests. **Molecular Ecology**. 19: pp. 1410-1422. 2010. DOI: [10.1111/j.1365-294X.2010.04591.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04591.x)

DRUMMOND, A. J., et al. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular Biology and Evolution*. 22(5): pp. 1185-1192. 2005. DOI: [10.1093/molbev/msi103](https://doi.org/10.1093/molbev/msi103)

ECKERT, C. G., SAMIS, K. E., LOUGHEED, S. C. Genetic variation across species' geographical ranges: the central–marginal hypothesis and beyond. **Molecular Ecology**, 17 (5): 1170-1188. 2008. DOI: [10.1111/j.1365-294X.2007.03659.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03659.x)

EDGAR, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*. 32 (5): 1792-1797. 2004. DOI: [10.1093/nar/gkh340](https://doi.org/10.1093/nar/gkh340)

EGGLI, U., et al. Taxonomy and Distribution Of Epiphytic Cacti In Uruguay – Notes Towards A Checklist Of Cactaceae Of Uruguay, Part 3. **Haseltonia**. 14: pp. 161-169. 2008. DOI: [10.2985/1070-0048-14.1.161](https://doi.org/10.2985/1070-0048-14.1.161)

EXCOFFIER, L., FOLL, M., PETIT, R. J. Genetic consequences of range expansions. *Annual Review. In Ecology, Evolution and Systematics*. 40: 481-501. 2009. DOI: [10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173414](https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.39.110707.173414)

EXCOFFIER, L. & LISCHER, H. E. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. **Molecular Ecology Resources**. 10 (3): 564-567. 2010. DOI: [10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x](https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x)

EXCOFFIER, L., SMOUSE, P. E., QUATTRO, J. M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. **Genetics**. 131 (2): 479-91. 1992.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1205020/pdf/ge1312479.pdf>

FERNANDES, L. A. & COIMBRA, A. R. O Grupo Caiuá (Ks): Revisão estratigráfica e contexto deposicional. **Revista Brasileira de Geociências**. 24 (3) pp. 164-176. 1994.

FERNANDES, L. A., CASTRO, A. B., BASILICI, G. Seismites in continental sand sea deposits of the Late Cretaceous Caiuá Desert, Bauru Basin, Brazil. **Sedimentary Geology**. 199. Pp. 51-64. 2007. DOI: [10.1016/j.sedgeo.2005.12.030](https://doi.org/10.1016/j.sedgeo.2005.12.030)

FIELDING, C. R. ; FRANK, T. D. ; ISBELL, J. L. The late Paleozoic ice age – A review of current understanding and synthesis of global climate patterns. In: FIELDING, C. R. ; FRANK, T. D. ; ISBELL, J. L., (eds.). **Resolving the Late Paleozoic Ice Age in Time and Space**. Geological Society of America Special Paper. 441. pp. 343-354. 2008. DOI: [10.1130/2008.2441\(24\)](https://doi.org/10.1130/2008.2441(24))

FORSTER, P., BANDELT, H. J., RÖHL, A. Network 4.6.1.5. 2005. Disponível online em: <http://www.fluxus-engineering.com>

FRANCO, F. F., et al. Plio-Pleistocene diversification of *Cereus* (Cactaceae, Cereaceae) and closely allied genera. **Botanical Journal of the Linnean Society**. Vol. 183 (2), pp. 199-210. 2017. DOI: [10.1093/botlinnean/bow010](https://doi.org/10.1093/botlinnean/bow010)

FU, Y. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, Hitchhiking and Background Selection. **Genetics**. 147 (2): 915-925. 1997. <http://www.genetics.org/content/genetics/147/2/915.full.pdf>

GARCIA, M. G., et al. Molecular evidence of cryptic speciation, historical range expansion, and recente intraspecific hybridization in the Neotropical seasonal forest tree *Cedrela fissilis* (Meliaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**. Vol. 61. pp. 639-649. 2011. DOI: doi.org/10.1016/j.ympev.2011.08.026

GENTRY, A. Neotropical Floristic Diversity: Phytogeographical Connections Between Central and South America, Pleistocene Climatic Fluctuations, or an Accident of the Andean Orogeny? **Annals of the Missouri Botanical Garden**. Vol 69 (3), pp. 557-593. 1982. DOI: [10.2307/2399084](https://doi.org/10.2307/2399084)

GOETZE, M., et al. East-to-west genetic structure in populations of *Aechmea calyculata* (Bromeliaceae) from the southern Atlantic rainforest of Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**. 181(3): pp. 477-490. 2016. DOI: [10.1111/boj.12416](https://doi.org/10.1111/boj.12416)

GUARALDO, A. C., BOENI, B. O., PIZO, M. A. Specialized Seed Dispersal in Epiphytic Cacti and Convergence with Mistletoes. **Biotropica**. 0 (0): pp. 1-9. 2013. DOI: [10.1111/btp.12041](https://doi.org/10.1111/btp.12041)

GUO, Q. Incorporating latitudinal and central–marginal trends in assessing genetic variation across species ranges. **Molecular Ecology**, 21(22): 5396-5403. 2012. DOI: [10.1111/mec.12012](https://doi.org/10.1111/mec.12012)

HAFFER, J. Speciation in Amazonian Forest Birds. **Science**. Vol. 165 (3889), pp. 131-137. 1969. DOI: [10.1126/science.165.3889.131](https://doi.org/10.1126/science.165.3889.131)

HARTL, D. L. & CLARK, A. G. **Princípios de Genética de Populações**. 4ª ed. Editora Artmed: Porto Alegre, 2010.

HAYES, F. E. & SEWLAL, J. N. The Amazon River as a dispersal barrier to passerine birds: effects of river width, habitat and taxonomy. **Journal of Biogeography**. 31 (11): pp. 1809-1818. 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2004.01139.x>

JABUR, I. C. & SANTOS, M. L. Revisão estratigráfica da Formação Caiuá. **Boletim de Geografia**. 2 (2) pp. 91-106. 1984.

KATZ, M. E., et al. Impact of Antarctic Circumpolar Current Development on Late Paleogene Ocean Structure. **Science** 332 (6033), pp. 1076-1079. 2011. DOI: [10.1126/science.1202122](https://doi.org/10.1126/science.1202122)

KEARSE, M., et al. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. **Bioinformatics**. 28(12), 1647-1649. 2012. DOI: [10.1093/bioinformatics/bts199](https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199)

KOCH, P. L. & BARNOSKY, A. D. Late Quaternary Extinctions : State of the Debate, **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**. 37: 215–252. 2006. DOI: [10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132415](https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132415)

KOPP, R. E. et al. The Paleoproterozoic snowball Earth: A climate disaster triggered by the evolution of oxygenic photosynthesis. **Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)**. Vol. 102 (32), pp. 11131-11136. 2005. DOI: [10.1073/pnas.0504878102](https://doi.org/10.1073/pnas.0504878102)

KOROTKOVA, N. et al. What does it take to resolve relationships and to identify species with molecular markers? An example from the epiphytic Rhipsalideae (Cactaceae). **American Journal of Botany**. 98(9): 1549-1572. 2011. DOI: [10.3732/ajb.1000502](https://doi.org/10.3732/ajb.1000502)

KUBITZKI, K. **The Families and Genera of the Vascular Plants**. Vol. II. Flowering Plants – Dicotyledons: Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid Families. Eds. K. Kubitzki, J. G. Rohwer, V. Bittrich. 1993. DOI: [.1007/978-3-662-02899-5](https://doi.org/10.1007/978-3-662-02899-5)

LEAL, B. S. S., SILVA, C. P., PINHEIRO, F. Phylogeographic Studies Depict the Role of Space and Time Scales of Plant Speciation in a Highly Diverse Neotropical Region. **Critical Reviews in Plant Sciences**. Vol 35(4), pp. 215-230. 2016. DOI: [10.1080/07352689.2016.1254494](https://doi.org/10.1080/07352689.2016.1254494)

LEDRU, M. P., SOARES BRAGA, P. I., SOUBIÈS, F., FOURNIER, M., MARTIN, L., SUGUIO, K. & TURCQ, B. The last 50,000 years in the Neotropics (Southern Brazil): Evolution of vegetation and climate. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**. 123(1-4): 239–257. 1996. [http://doi.org/10.1016/0031-0182\(96\)00105-8](http://doi.org/10.1016/0031-0182(96)00105-8)

LEITE, Y. L. R., et al. Neotropical forest expansion during the last glacial period challenges refuge hypothesis. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**. 113(4): pp. 1008-1013. 2016. DOI: <http://doi.org/10.1073/pnas.1513062113>

LEVIN, D. A. & KERSTER, H. W. **Gene Flow in Seed Plants**. Cap. 5. In: Evolutionary Biology. Vol. 7. eds. Theodosius Dobzhansky, Max K. Hecht, William C. Steere. Premium Press: New York. 1967. DOI: [10.1007/978-1-4615-6944-2](http://doi.org/10.1007/978-1-4615-6944-2) / ISBN: 13:978-1-4615-6944-2

LIBRADO, P., & ROZAS, J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. **Bioinformatics**. 25 (11): 1451-1452. 2009. DOI: [10.1093/bioinformatics/btp187](http://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp187)

LOMBARDI, J. A. O gênero *Rhipsalis* Gärtner (CACTACEAE), no Estado de São Paulo. II. Espécies com ramos aplanados. **Acta. Botânica Brasilica**. Vol. 9(1), pp.151-161. 1995. DOI: [10.1590/S0102-33061995000100008](http://doi.org/10.1590/S0102-33061995000100008)

MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research** 27 (2): 209-220. 1967. http://cancerres.aacrjournals.org/content/27/2_Part_1/209.full-text.pdf

MARTINS, F. Historical biogeography of the Brazilian Atlantic forest and the Carnaval-Moritz model of Pleistocene refugia: what do phylogeographical studies tell us? **Biological Journal of the Linnean Society**. 104: pp. 499-509. 2011. DOI: [10.1111/j.1095-8312.2011.01745.x](http://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2011.01745.x)

MAYLE, F. Assessment of the Neotropical dry forest refugia hypothesis in the light of palaeocological data and vegetation model simulations. **Journal of Quaternary Science**. Vol 19(7), pp. 713-720. 2004. DOI: [10.1002/jqs.887](http://doi.org/10.1002/jqs.887)

MEERT, J. G. ; TORSVIK, T. H. The making and unmaking of a supercontinent: Rodinia revisited. **Tectonophysics**. Vol. 375 (1-4), pp. 261-288. 2003. DOI: [10.1016/S0040-1951\(03\)00342-1](http://doi.org/10.1016/S0040-1951(03)00342-1)

MOERMOND, T. C. & DENSLOW, J. S. Neotropical avian frugivores: patterns of behavior, morphology, and nutrition, with consequences for fruit selection. In: **Neotropical Ornithology**. eds. P. A. Buckley, Mercedes S. Foster, Eugene S. Morton, Robert S. Ridgely, and Francine G. Buckley. Ornithological Monographs no. 36. Washington, D.C.: The American Ornithologists' Union. pp. 865-897. 1985. DOI: [10.2307/40168322](http://doi.org/10.2307/40168322)

MOGNI, V. Y., OAKLEY, L. J., PRADO, D. E. The distribution of woody legumes in the Neotropical Dry Forests: the Pleistocene Arc Theory 20 years on. **Edinburgh Journal of Botany**. Vol. 72 (1), pp. 35-60. 2015. DOI: [10.1017/S0960428614000298](https://doi.org/10.1017/S0960428614000298)

MORENO, N. et al. Molecular cytogenetic insights into the evolution of the epiphytic genus *Lepismium* (Cactaceae) and related genera. **Botanical Journal**. 177: 263-277. 2015. DOI: [2010.1111/boj.12242](https://doi.org/2010.1111/boj.12242)

NEVES, D. M. et al. Environmental and historical controls of floristic composition across the South American Dry Diagonal. **Journal of Biogeography**. Vol. 42(8), pp. 1566-1576. 2015. DOI: [10.1111/jbi.12529](https://doi.org/10.1111/jbi.12529)

NOVAES, R. M. L. et al. Phylogeography of *Plathymeria reticulata* (Leguminosae) reveals patterns of recent range expansion towards northeastern Brazil and southern Cerrados in Eastern Tropical South America. **Molecular Ecology**. 19. pp. 985-998. 2010. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04530.x>

ORTIZ-JAUREGUIZAR, E. & CLADERA, G. A. Paleoenvironmental evolution of southern South America during the Cenozoic. **Journal of Arid Environments**. 66, pp. 498-532. 2006. DOI: [10.1016/j.jaridenv.2006.01.007](https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2006.01.007)

PELLEGRINO, K. C. M. et al. Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwini* complex (Gekkonidae, Squamata): genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. **Biological Journal of the Linnean Society**. 85 (1): pp. 13-26. 2005. DOI: [10.1111/j.1095-8312.2005.00472.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2005.00472.x)

PALMA-SILVA, C., et al. Range-wide patterns of nuclear and chloroplast DNA diversity in *Vriesea gigantea* (Bromeliaceae), a neotropical forest species. **Heredity**. 103: pp.503-512. 2009. DOI: <http://doi.org/10.1038/hdy.2009.116>

PENNINGTON, R. T., PRADO, D. E. & PENDRY, C. A. Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. **Journal of Biogeography**. 27(2): 261–273. 2000. DOI: doi.org/10.1046/j.1365-2699.2000.00397.x

PETIT, R., et al. INVITED REVIEW: Comparative organization of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations. **Molecular Ecology**. 14 (3): pp. 689-701. 2005. DOI: [10.1111/j.1365-294X.2004.02410.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02410.x)

PINHEIRO, F., et al. Phylogeographic structure and outbreeding depression reveal early stages of reproductive isolation in the neotropical orchid *Epidendrum denticulatum*. **Evolution**. 67(7): pp. 2024-2039. 2013. DOI: <http://doi.org/10.1111/evo.12085>

POMEROL, C. et al. **Princípios de Geologia**: técnicas, modelos e teorias. tradução: Maria Lidia Vignol Lelarge, Pascal François Camille Lelarge ; revisão técnica: Rualdo Menegat, Maria Lidia Vignol Lelarge. 14. ed. Porto Alegre, RS : Bookman, 2013. ISBN: 978-85-65837-75-0

PRADO, D. E. Seasonally dry forests of tropical South America: from forgotten ecosystems to a new phytogeographic unit. **Edinburg Journal of Botany**. Vol 57 (3), pp. 437-461. 2000.

PRADO, D. E. & GIBBS, P. E. Patterns of Species Distributions in the Dry Seasonal Forests of South America. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 80(4): 902–927. 1993. DOI: [10.2307/2399937](https://doi.org/10.2307/2399937)

RAMOS-ONSINS, S. & ROZAS, J. Statistical Properties of New Neutrality Tests Against Population Growth. **Molecular Biology Evolution**. 19 (12): 2092-2100. 2002. <https://pdfs.semanticscholar.org/e00a/a4f80f822cc4f7349730e70408cd87f6b5ac.pdf>

RAMOS, A.C.S. et al. Phylogeography of the tree *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and the influence of Quaternary climate changes in the Brazilian Cerrado. **Annals of Botany**. 100: 1219–1228. 2007. DOI: [10.1093/aob/mcm221](https://doi.org/10.1093/aob/mcm221)

RAMOS, A. C. S., LEMOS-FILHO, J. P., LOVATO, M. B. Phylogeographical structure of the neotropical forest tree *Hymenaea courbaril* (Leguminosae: Caesalpinioideae) and its relationship with the vicariant *Hymenaea stigonocarpa* from Cerrado. **Journal of Heredity**. 100: 206–216. 2009. DOI: [10.1093/jhered/esn092](https://doi.org/10.1093/jhered/esn092)

RIBEIRO, R. A. et al. Phylogeography of the endangered rosewood *Dalbergia nigra* (Fabaceae): insights into the evolutionary history and conservation of the Brazilian Atlantic Forest. **Heredity**. 106(1): 46–57. 2011. DOI: [10.1038/hdy.2010.64](https://doi.org/10.1038/hdy.2010.64)

SALGADO-LABOURIAU, M. L. **Historia ecológica da Terra**. 2. ed. São Paulo: Edgard Blucher LTDA, 1994. ISBN: 9788521200901.

SALGADO-LABOURIAU, M. L. Late Quaternary palaeoclimate in the savannas of South America. **Journal of Quaternary Science**. Vol. 12, 371-379. 1997. DOI: [10.1002/\(SICI\)1099-1417\(199709/10\)12:5<371::AID-JQS320>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1417(199709/10)12:5<371::AID-JQS320>3.0.CO;2-3)

SALLUN, A. E. M. & SUGUIO, K. Datação absoluta por luminescência do Alogrupo Alto Rio Paraná (SP, PR e MS). **Revista do Instituto Geológico**. 27-28 (1/2), pp. 13-29. 2007.

SCHUPP, E. W., JORDANO, P., GÓMEZ, J. M. Seed dispersal effectiveness revisited: a conceptual review. **New Phytologist**. 188 (2): pp. 333-353. 2010. DOI: [10.1111/j.1469-8137.2010.03402.x](https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03402.x)

SHAW, J. & SMALL, R. L. Chloroplast DNA phylogeny and phylogeography of the North American Plums (*Prunus* subgenus *Prunus* section *Prunocerasus*, ROSACEAE). **American Journal of Botany**. 92 (12): 2011-2030. 2005. DOI: [10.3732/ajb.92.12.2011](https://doi.org/10.3732/ajb.92.12.2011)

SHAW, J. et al. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in Angiosperms: the tortoise and the hare III. **American Journal of Botany**. 94 (3): 275-288. 2007. DOI: [10.3732/ajb.94.3.275](https://doi.org/10.3732/ajb.94.3.275)

- SHAW, J., et al. Chloroplast DNA sequence utility for the lowest phylogenetic and phylogeographic inferences in angiosperms: the tortoise and the hare IV. **American Journal of Botany**. 101 (11): pp. 1987-2004. 2014. DOI: [10.3732/ajb.1400398](https://doi.org/10.3732/ajb.1400398)
- SILVA, M. L. A Dinâmica de Expansão e Retração de Cerrados e Caatingas no Período Quaternário: Uma análise segundo a perspectiva da Teoria dos Refúgios e Redutos Florestais. **Revista Brasileira de Geografia Física**. Vol 4 (1). pp. 57-73. 2011.
- SNOW, D. Tropical Frugivorous Birds and Their Food Plants: A World Survey. **Biotropica**. 13 (1): pp. 1-14. 1981. DOI: [10.2307/2387865](https://doi.org/10.2307/2387865)
- STEPHENS, M., SMITH, N. J., DONNELLY, P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. **The American Journal of Human Genetics**. 68 (4): pp. 978-989. 2001. DOI: [10.1086/319501](https://doi.org/10.1086/319501)
- STEPHENS, M. & DONNELLY, P. A Comparison of Bayesian Methods for Haplotype Reconstruction from Population Genotype Data. **The American Journal of Human Genetics**. 73 (5): pp. 1162-1169. 2003. DOI: [10.1086/379378](https://doi.org/10.1086/379378)
- STEVAUX, J. C. The Upper Paraná River (Brazil): Geomorphology, sedimentology and paleoclimatology. **Quaternary International**. 21 pp. 143-161. 1994. DOI: [10.1016/1040-6182\(94\)90028-0](https://doi.org/10.1016/1040-6182(94)90028-0)
- STEVAUX, J. C. Climatic events during the Late Pleistocene and Holocene in the Upper Paraná River: Correlation with NE Argentina and South-Central Brazil. **Quaternary International**. 72 (1): pp 73-85. 2000. DOI: [10.1016/S1040-6182\(00\)00023-9](https://doi.org/10.1016/S1040-6182(00)00023-9)
- STEWART, J. R. et al. Refugia revisited: individualistic responses of species in space and time. **Proceedings of the Royal Society**. Vol. 277, pp. 661-671. 2009. DOI: [10.1098/rspb.2009.1272](https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1272)
- SUN, Y., et al. Phylogenetics analysis of *Sorghum* and related taxa using internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA. **Theoretical and Applied Genetics**. 89(1): pp. 26-32. 1994. DOI: [10.1007/BF00226978](https://doi.org/10.1007/BF00226978)
- TAMURA, K. et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. **Molecular Biology and Evolution**. 30 (12): 2725-2729. 2013. DOI: [10.1093/molbev/mst197](https://doi.org/10.1093/molbev/mst197)
- TEL-ZUR, N., ABBO, S., MYSLABODSKI, D., MIZRAHI, Y. Modified CTAB Procedure for DNA Isolation from Epiphytic Cacti of the Genera *Hylocereus* and *Selenicereus* (Cactaceae). **Plant Molecular Biology Reporter** 17: 249-254, 1999. DOI: [10.1023/A:1007656315275](https://doi.org/10.1023/A:1007656315275)
- TABERLET, P., GIELLY, L., PAUTOU, G., BOUVET, P. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. **Plant Molecular Biology**. 17 (5): pp. 1105-1109. 1991. DOI: [10.1007/BF00037152](https://doi.org/10.1007/BF00037152)

TAJIMA, F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. **Genetics**. 123 (3): 585-595. 1989.

<http://www.genetics.org/content/genetics/123/3/585.full.pdf>

TURCHETTO-ZOLET, A. C. et al. Phyllogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. **Molecular Ecology** 22, 1193-1213. 2012. DOI:

[10.1111/mec.12164](https://doi.org/10.1111/mec.12164)

VAN DER HAMMEN, T. The Pleistocene Changes of vegetation The Pleistocene changes in tropical South America and climate. **Journal of Biogeography**, 1(1), 3–26. 1974. DOI: [10.2307/3038066](https://doi.org/10.2307/3038066)

VUILLEUMIER, B. S. Pleistocene Changes in the Fauna and Flora of South America. **Science**. Vol 173 (3999), pp. 771-780. 1971. DOI: [10.1126/science.173.3999.771](https://doi.org/10.1126/science.173.3999.771)

WRIGHT, S. Variability within and among natural populations. In: **Evolution and the genetics of populations**. vol. 4. Chicago: The University of Chicago Press. 1978. ISBN: 0-226-91052

ZACHOS, J. et al. Trends, Rhythms, and Aberrations in Global Climate 65 Ma to Present. **Science**. Vol. 292 (5517), pp. 686-693. 2001. DOI:

[10.1126/science.1059412](https://doi.org/10.1126/science.1059412)

ZAPPI, D. C., TAYLOR, N. P., MACHADO, M. C. **Cactaceae**. In: Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, vol., 1: 822 – 832. 2010.

<http://reflora.jbrj.gov.br/downloads/vol1.pdf>

ZOTZ, G. Interactions with Other Organisms. In: ZOTZ, G. **Plants on Plants – The Biology of Vascular Epiphytes**. Switzerland: Springer International Publishing. 2016. Cap. 8, pp. 203-227. ISBN: 978-3-319-39237-0

APENDICE A. O protocolo descrito por TEL-ZUR et al., 1999 para cactos epifíticos do gênero *Hylocereus* e *Selenicereus* adaptado para a extração de material genético de *Lepismium cruciforme*.

Protocolo

1. Macerar 0,5g à 1,0g de tecido vivo em 1,5mL de solução tampão de sorbitol (4°C);
2. Recolher a solução em tubos de 2,0mL e estocar em geladeira (4°C) por 20 minutos;
3. Centrifugar por 10 minutos à 4°C em 10.000 rpm;
4. Verter o sobrenadante e repetir a adição de 1,5 mL de solução tampão de sorbitol. (Repetir os passos 2, 3 e 4 até que seja possível dissipar toda a viscosidade da solução)
5. Adicionar 30 uL de Sarcozil, 2,5 uL de Proteinase-K, 800 uL de CTAB (3%) pré-aquecido;
6. Misturar no Termomixer por 60 minutos à 65°C em 1.000 rpm;
7. Adicionar 600 uL de CIA (24:1) e agitar no Vortex;
8. Centrifugar por 10 minutos à 25°C em 10.000 rpm;
9. Recolher suspensão (900 uL) e pipetar em novo tubo de 2,0mL;
10. Adicionar 500 uL de CIA (24:1) e agitar no Vortex;
11. Centrifugar por 10 minutos à 25°C em 10.000 rpm;
12. Recolher suspensão (900uL) e pipetar em novo tubo de 2,0mL;
13. Adicionar 500uL de Isopropanol, inverter manualmente e estocar à -20°C por 24h;
14. Centrifugar por 30 minutos à 4°C em 15.000 rpm;
15. Verter sobrenadante e adicionar 500 uL de Etanol (70%);
16. Centrifugar por 10 minutos à 25°C em 15.000 rpm;
17. Verter sobrenadante e adicionar 500 uL de Etanol (100%);
18. Centrifugar por 10 minutos à 25°C em 15.000 rpm;
19. Verter sobrenadante e secar no Termomixer por 20 minutos à 65°C em 0 rpm;
20. Adicionar 30uL de água ultrapura e estocar à 25°C por 24h;
21. Agitar rapidamente no Vortex e centrifugar (short) e estocar em -20°C.

APENDICE B. Marcadores moleculares, e seus respectivos iniciadores, escolhidos para testes buscando regiões polimórficas em *Lepismium cruciforme*.

Região	Iniciador	Sequência	Referencia
ITS	17SE	ACGAATTCATGGTCCGGTGAAGTGTTCCG	SUN et al. 1994
	26SE	TAGAATTCCTCCGGTTCGCTCGCCGTTAC	
rpl32-trnL	rpl32-R	CCA ATA TCC CTT YYT TTT CCA A	TABERLET et al. 1991; CHANG et al. 2015
	trnL-B	TCT ACC GAT TTC GCC ATA TC	
3'rps16-5'trnK	rps16x2F2	AAA GTG GGT TTT TAT GAT CC	SHAW et al. 2007
	trnK ^(UUU)	TTA AAA GCC GAG TAC TCT ACC	
psbA-trnH	psbA-F	GTTATGCATGAACGTAATGCTC	SHAW et al. 2005
	trnH2	CGCGCATGGTGGATTACAATCC	
trnL-trnF	trnL-D	GGGGATAGAGGGACTTGAAC	TABERLET et al. 1991
	trnL-F ^(GAA)	ATTTGAACTGGTGACACGAG	
rpl16	rpL16F71	GCT ATG CTT AGT GTG TGA CTC GTT G	SHAW et al. 2005
	rpL16R1516	CCC TTC ATT CTT CCT CTA TGT TG	
rps4-trnT	rpS4R2	CTG TNA GWC CRT AAT GAA AAC G	SHAW et al. 2005
	trnT ^(UGU) R	AGG TTA GAG CAT CGC ATT TG	
trnQ5'-rps16	trnQ ^(UUG)	GCG TGG CCA AGY GGT AAG GC	SHAW et al. 2007
	rpS16x1	GTT GCT TTY TAC CAC ATC GTT T	
trnS-trnG	trnS ^(GCU)	AACTCGTACAACGGATTAGCAATC	SHAW et al. 2005
	5'trnG2S	TTTTACCACTAAACTATACCCGC	
trnV-ndhC	3'trnV ^(UAC)	GTC TAC GGT TCG ART CCG TA	SHAW et al. 2007
	ndhC	TAT TAT TAG AAA TGY CCA RAA AAT ATC ATA TTC	

Tabelas e Figuras

Tabela 1 – Detalhes dos locais de amostragem de *Lepismium cruciforme*.

População	Localização	Latitude	Longitude	Elevação	Clima	Tipo Florestal
EE CAETETUS	Gália – SP	22°22'53"S	49°40'47"O	670m	Cfa	Estac. Semidec.
EE CAIUÁ	Diamante do Norte – PR	22°36'30"S	52°52'31"O	300m	Aw	Estac. Semidec.
CURITIBA	Curitiba – PR	25°25'44"S	49°16'00"O	910m	Cfb	Ombrófila Mista alterada
MARINGÁ	Maringá – PR	23°25'43"S	51°55'46"O	530m	Cfb	Estac. Semidec. aterada
PE Morro do Diabo	Teodoro Sampaio – SP	22°37'26"S	52°11'05"O	290m	Aw	Estac. Semidec.
PIRACICABA	Piracicaba – SP	22°42'24"S	47°38'59"O	490m	Cfa	Estac. Semidec. aterada
TIBAGI	Telemaco Borba – PR	24° 3'38"S	50°42'36"O	650m	Cfa	Ombróf. Mista/ Estac. Semidec.
PE Vila Velha	Ponta Grossa – PR	25°15'11"S	50°00'07"O	820m	Cfb	Ombrófila Mista

Legenda: Classificação climática **Köppen-Geiger**: **Aw** – Clima Tropical com precipitação anual total média < 250mm; **Cfa** – Clima Subtropical com inexistência de estação seca definida, temperatura média do ar no mês mais quente $\geq 22^{\circ}\text{C}$ e no mês mais frio $> 10^{\circ}\text{C}$; **Cfb** - Clima Subtropical com inexistência de estação seca definida, temperatura média do ar no mês mais quente $< 22^{\circ}\text{C}$ e nos quatro meses mais quentes $> 10^{\circ}\text{C}$.

Tabela 2 – Diversidade genética dentro de populações de *L. cruciforme*.

POPULAÇÃO	N	S	nH	Hd	Pi
EE CAETETUS	13	2	2	0.2708	0.000849
EE CAIUÁ	7	17	3	0.6154	0.009094
CURITIBA	7	1	2	0.1429	0.000224
MARINGÁ	6	0	1	0.0000	0.000000
PE Morro Diabo	5	3	4	0.7333	0.002020
PIRACICABA	13	0	1	0.0000	0.000000
TIBAGI	13	2	2	0.0769	0.000241
PE Vila Velha	7	5	4	0.6593	0.002067
Espécie	(71)	23	9	0.3057	0.001819

Legenda: **N**, tamanho da amostra; **S**, número de sítios polimórficos; **Hd**, diversidade haplotípica; **nH**, número de haplótipos; **Pi**, diversidade nucleotídica.

Tabela 3 – Análise de variância molecular (AMOVA) das oito populações de *L. cruciforme*, estudadas a partir do marcador nuclear *ITS*.

Origem da Variação	Componentes da Variância	Percentagem de Variação
Entre as populações	0.13863	23.14
Dentro das populações	0.46050	76.86
Total	0.59913	
Índice de Fixação	F_{st} :0.23139	$p = 0.00000$

Tabela 4 – Análise de variância molecular (AMOVA) par a par das oito populações de *L. cruciforme*, estudadas a partir do marcador nuclear *ITS*.

POPULAÇÃO	1	2	3	4	5	6	7	8
1. EE CAETETUS	*	0.00010	0.00861	0.35838	0.06287	0.29809	0.11167	0.17068
2. EE CAIUA	0.31607	*	0.00734	0.00059	0.00416	0.01638	0.00040	0.01544
3. PE VILA VELHA	0.11510	0.20699	*	0.00069	0.00079	0.21513	0.00079	0.28779
4. TIBAGI	0.03672	0.33514	0.11906	*	0.00109	0.99990	0.99990	0.58083
5. PE Morro do Diabo	0.15847	0.23927	0.23888	0.41500	*	0.00248	0.00000	0.00337
6. MARINGÁ	0.06101	0.22645	0.06145	-0.03435	0.38743	*	0.99990	0.99990
7. PIRACICABA	0.12000	0.34687	0.14621	0.00000	0.53742	0.00000	*	0.34749
8. CURITIBA	0.06932	0.24336	0.04513	-0.00124	0.37859	-0.01158	0.04712	*

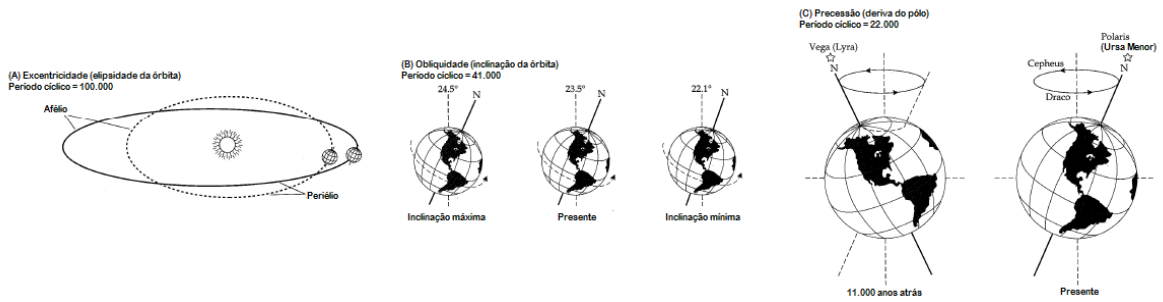
Legenda: Valores de **p** se encontram acima e seus respectivos **F_{st}**, abaixo. Em destaque estão as variâncias significativas.

Tabela 5 – Valores dos teste de neutralidade de Tajima (**D**), **R₂** e Fu (**F_s**) para as oito populações de *L. cruciforme*.

POPULAÇÃO	Tajima D	P	Fu' Fs	P	R₂	P
EE CAETETUS	0.07120	0.63740	1.71217	0.76350	0.1354	0.43611
EE CAIUÁ	0.19855	0.62090	7.02047	0.99370	0.1648	0.71200
CURITIBA	-1.15524	0.16100	-0.59478	0.11130	0.2575	0.62651
MARINGA	0.00000	1.00000	x	x	x	x
PE Morro Diabo	0.77501	0.77120	-0.34778	0.29270	0.2072	0.63666
PIRACICABA	0.00000	1.00000	x	x	x	x
TIBAGI	-1.51314*	0.04150*	-0.26502	0.17480	0.1923	0.75463
PE Vila Velha	-0.55840	0.31250	0.19238	0.55160	0.1319	0.14891
Espécie	-2.05218*	0.00140*	-1.88407	0.22770	0.0245*	0.01503*

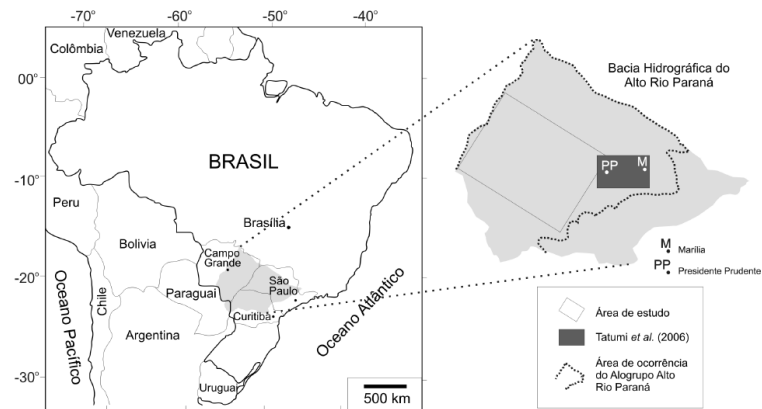
Legenda: Valores significativos ($p < 0,05$) destacados com asterisco.

Figura 1 – Mudanças periódicas na excentricidade, obliquidade e precessão da órbita terrestre. Em conjunto, esses movimentos são denominados Ciclos de Milankovitch.



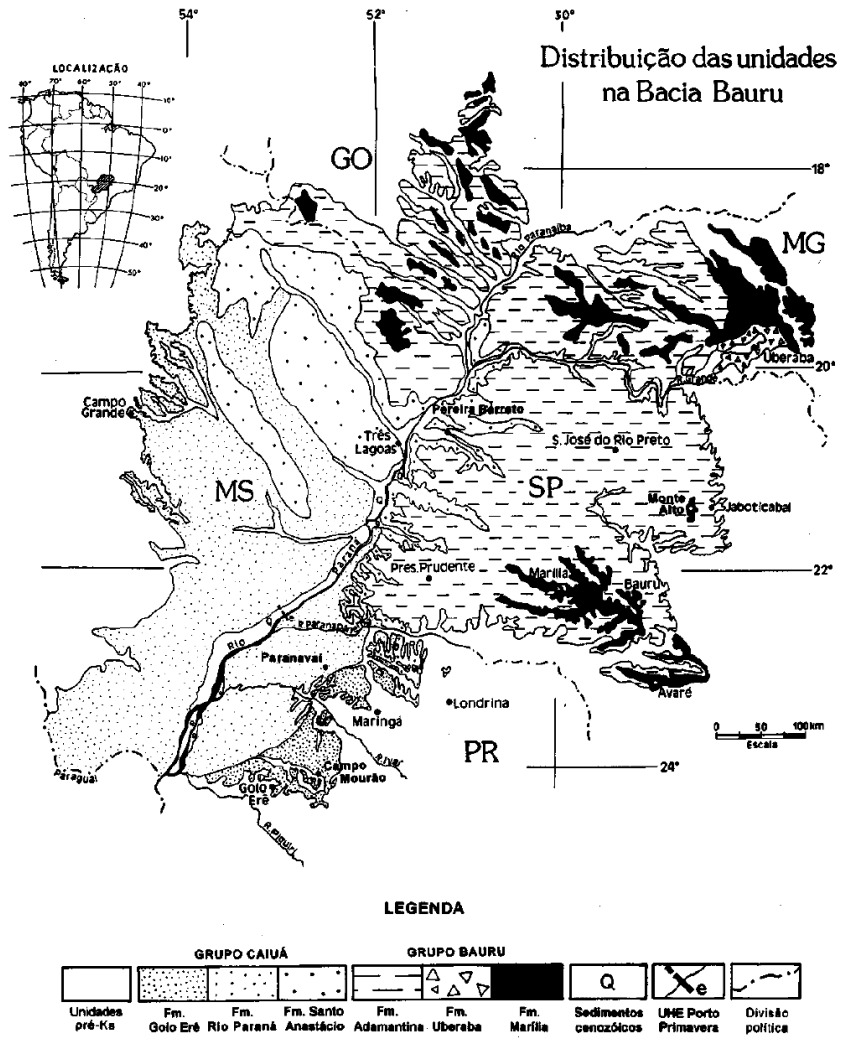
Fonte: modificado de BROWN & LOMOLINO, 2006.

Figura 2 – Unidade estratigráfica do Alogrupo Alto Rio Paraná. Constituída de depósitos sedimentares de origem coluvial (Aloformação Paranaíba) e aluvial (Aloformação Paraná).



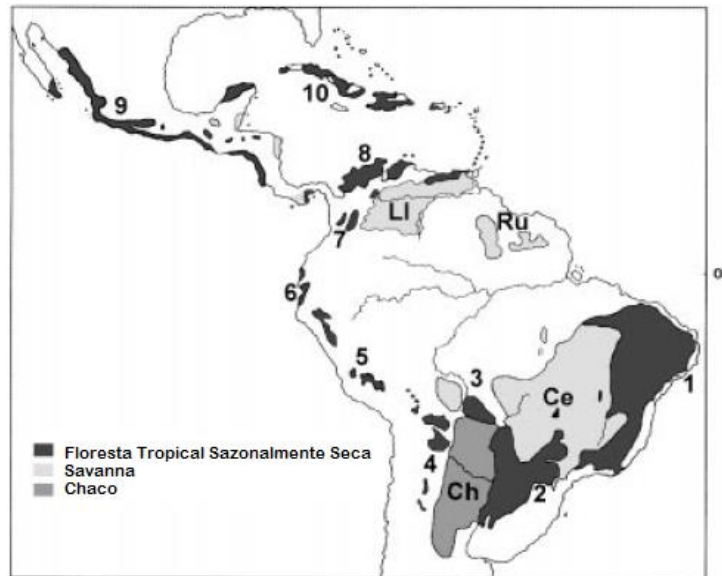
Fonte: SALLUN & SUGUIO, 2007.

Figura 3 – Mapa de distribuição das unidades na Bacia Bauru.



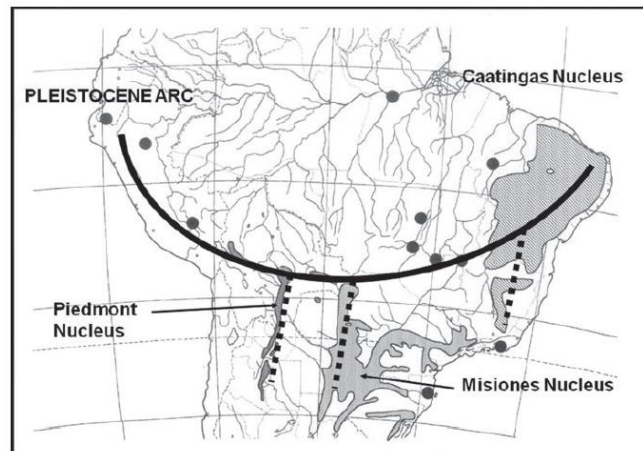
Fonte: FERNANDES & COIMBRA, 1994.

Figura 4 – Distribuição da vegetação sazonalmente seca nos Neotrópicos.



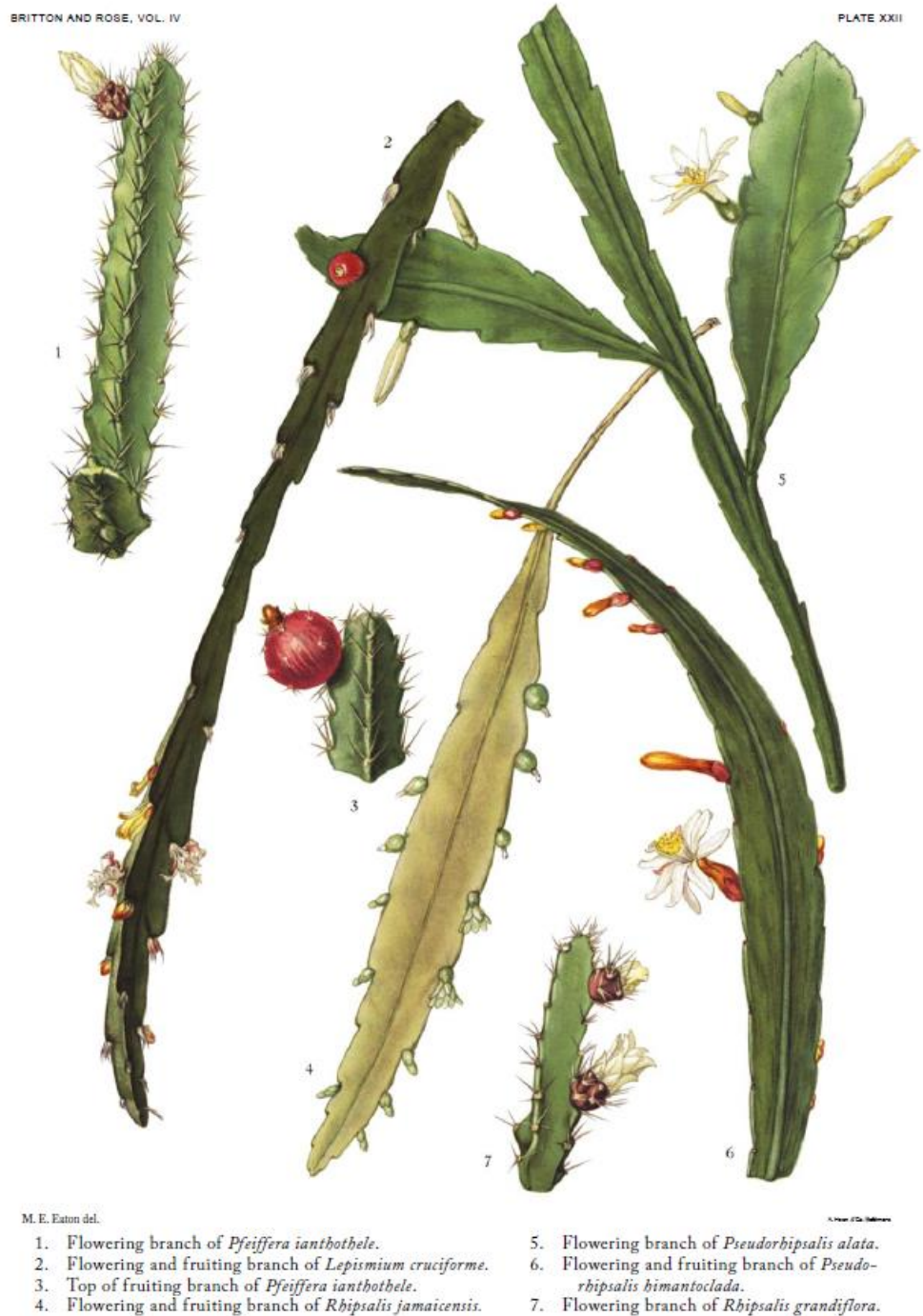
Legenda: Floresta sazonalmente seca: Caatingas (1); Nucleo de Misiones (2); Região do Chiquitano Boliviano (3); Nucleo Piedmont (4); vale Interandino Bolívia-Peru (5); costa do Pacífico no Equador (6); vale Interandino Colombiano (7); costa Caribenha da Colômbia e da Venezuela (8); América Central (9); Antilhas (10). **Savannas:** Cerrado (Ce); Llanos (Li); Rupununi (Ru). **Chaco** (Ch). **Fonte:** modificado PENNINGTON et al., 2000.

Figura 5 – O Arco Pleistocênico das Florestas Tropicais Sazonalmente Secas do centro da América do Sul.



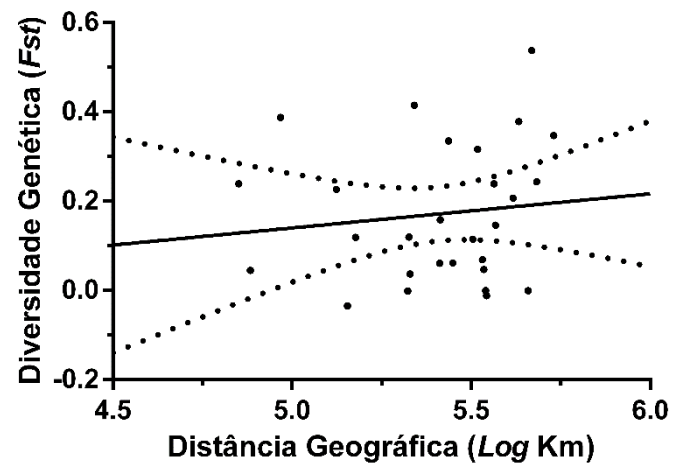
Legenda: Todos os maiores núcleos de floresta seca estão indicadas (Caatingas, Misiones e Piedmont). **Fonte:** MOGNI et al. 2015.

Figura 6 – Ilustração científica dos ramos de floração e de frutificação de *Lepismium cruciforme* e outras espécies de cactos epifíticos. (Prancha 22. BRITTON & ROSE, 1923).



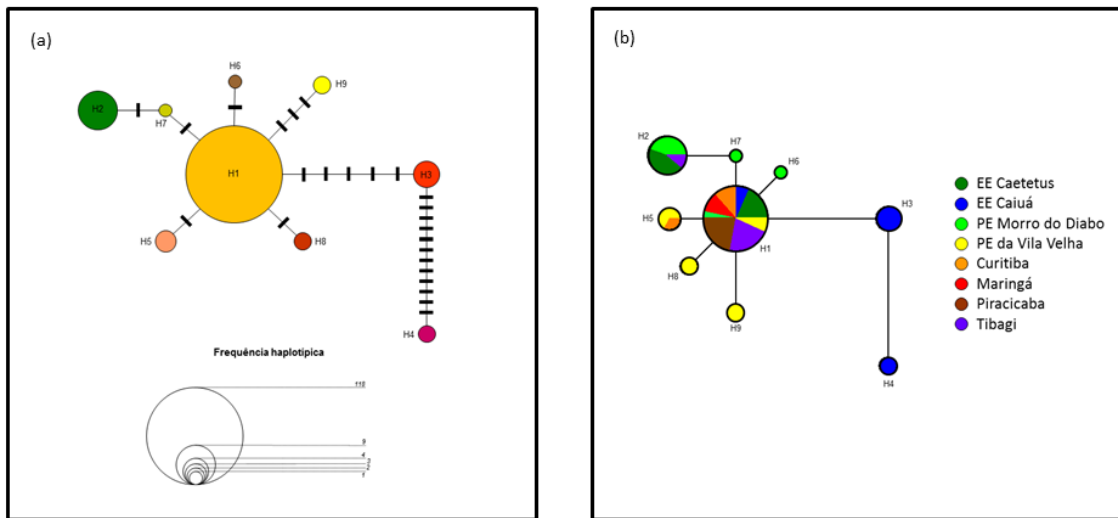
Legenda: Prancha 22. (1) Ramo de floração de *Pfeiffera ianthothele*. (2) Ramo de floração e frutificação de *Lepismium cruciforme*. (3) Topo do ramo de frutificação de *Rhipsalis jamaicensis*. (5) Ramo de floração de *Pseudorhipsalis alata*. (6) Ramo de floração e frutificação de *Pseudorhipsalis himantoclada*. (7) Ramo de floração de *Pfeiffera ianthothele*.

Figura 7 – Relações entre distância geográfica e diversidade genética pelo teste de mantel entre as oito populações de *Lepismium cruciforme*.



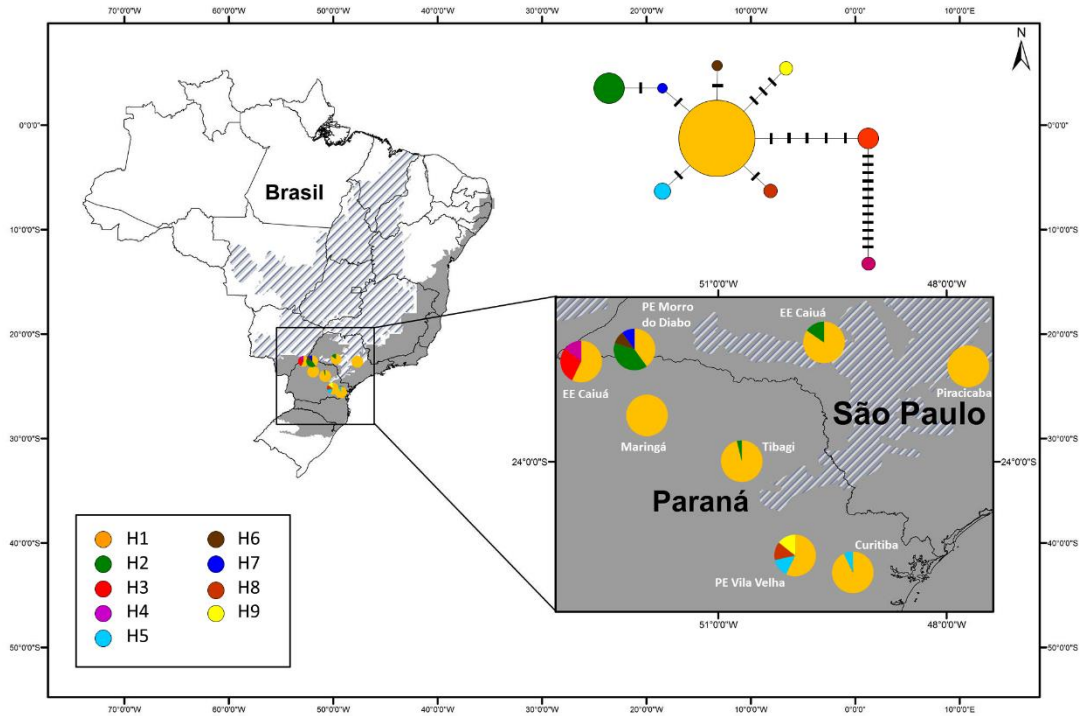
Legenda: Teste realizado com 10.000 permutações ($r = 0.119$; $p = 0.255$).

Figura 8 – Rede haplotípica construída com base nas variações de sequências da região nuclear *ITS* de populações de *L. cruciforme*.



Legenda: (a) Frequências haplotípicas demonstradas pela proporcionalidade dos círculos. (b) Distribuição dos haplótipos entre as populações amostradas.

Figura 9 – Mapa da distribuição geográfica das populações amostradas de *Lepismium cruciforme* ao longo da Floresta Atlântica (cinza).



Legenda: Detalhe para a distribuição dos haplótipos em cada população. Área rachurada representa a distribuição do bioma Cerrado

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: Influência das oscilações climáticas do quaternário na história biogeográfica da Mata Atlântica: uma interpretação a partir de análises filogeográficas de *Lepismium cruciforme* (Vell.) Miq. (CACTACEAE)

AUTOR: THIAGO DE CASTRO RIBEIRO

ORIENTADOR: FÁBIO PINHEIRO

Aprovado como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em CIÊNCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGIA VEGETAL), pela Comissão Examinadora:



Prof. Dr. FÁBIO PINHEIRO

Departamento de Botânica - Instituto de Biologia / UNICAMP - Campinas/SP



Prof. Dr. JULIO ANTONIO LOMBARDI

Departamento de Botânica / UNESP - Instituto de Biociências de Rio Claro - SP

Prof. Dr. EVANDRO MARSOLA DE MORAES

Departamento de Biologia / Universidade Federal de São Carlos, Campus Sorocaba - SP

Rio Claro, 09 de novembro de 2017