

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FLORESTAIS

JOÃO PAULO FERNANDES ZORZANELLI

ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Freziera atlantica* Zorzanelli & Amorim (PENTAPHYLACACEAE)

JERÔNIMO MONTEIRO – ES 2019

JOÃO PAULO FERNANDES ZORZANELLI

ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Freziera atlantica* Zorzanelli & Amorim (PENTAPHYLACACEAE)

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciências Florestais na Área de Concentração Ciências Florestais.

Orientadora: Sustanis Horn Kunz Coorientadora: Tatiana Tavares Carrijo

ASPECTOS BIOLÓGICOS DE Freziera atlantica Zorzanelli & Amorim (Pentaphylacaceae)

João Paulo Fernandes Zorzanelli

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Doutor em Ciências Florestais na Área de Concentração Ciências Florestais.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2019.

Dr. Dayvid Rødrigues Couto (Examinador externo)
Universidade Estadual do Norte Fluminense

Dr. Glaudio Nicoletti de Fraga (Examinador externo)
Instituto de Pesquisas do Jardim Botânico do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Fábio Demolinari de Miranda (Examinador externo)
Universidade Federal do Espírito Santo

Prof^a. Dr^a. Tatiana Tavares Carrijo (Coorientadora) Universidade Federal do Espírito Santo

Prof^a. Dr^a. Sustanis Horn Kunz (Orientadora) Universidade Federal do Espírito Santo

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

Zorzanelli, João Paulo Fernandes, 1985-

Z83a Aspectos biológicos de Freziera atlantica Zorzanelli & Amorim (Pentaphylacaceae) / João Paulo Fernandes Zorzanelli. - 2019.

70 f.: il.

Orientadora: Sustanis Horn Kunz.

Coorientadora: Tatiana Tavares Carrijo.

Tese (Doutorado em Ciências Florestais) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Biodiversidade florestal. 2. Botânica. 3. Genética. 4. Taxonomia vegetal. I. Kunz, Sustanis Horn. II. Carrijo, Tatiana Tavares. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. IV. Título.

CDU: 630*38

DEDICATÓRIA

"Aos meus pais que me fizeram vôo alçar Aos meus irmãos a vida inteira a ensinar À minha família, essa tese vou dedicar."

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente ao Programa de Pós-Graduação pela confiança depositada à minha pessoa na certeza de poder contribuir para seu crescimento e manter seu padrão de excelência na produção intelectual e científica.

Sou grato também ao fomento prestado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) no sentido de favorecer a execução do meu projeto de pesquisa, garantindo avanços notáveis no conhecimento e difusão dos resultados.

Agradeço imensamente o carinho, o apoio, a dedicação e o direcionamento do meu comitê de orientação composto por profissionais incríveis e de alto nível. Sempre estiveram preocupados com o andamento dos trabalhos, foram cruciais para ampliação do meu cabedal de conhecimento e como pessoas foram sensíveis às minhas fraquezas e firmes para me fazer sempre manter de pé. Obrigado, Sustanis e Tatiana. Vocês são mara!!!

Agradeço também todas as ricas contribuições científicas, insights e por me instigarem a uma visão alternativa ao que propus em meu trabalho. À banca repleta de profissionais gabaritados, sou grato (Fábio, Cláudio e Dayvid).

Agradeço ao apoio incondicional prestado por toda minha família. Não há nada melhor que os afagos e a atenção dos pais (Rubens e Leilimar) e dos irmãos (Raquel e Rafael) nos momentos mais críticos.

Agradeço de maneira especial e com muito amor à enorme compreensão em todos os sentidos nessa minha luta quase infinita. Obrigado pelo amor desmedido, Elaine, minha eterna namorada.

Sou incrivelmente grato ao casal de amigos e grandes pesquisadores Adelson e Lucimara que contribuíram de forma expressiva para o capítulo de diversidade genética. Foram muitas aventuras no laboratório de biologia molecular, muito trabalho e dedicação em todos os processos, inclusive no manuscrito. Eita equipe maravilhosa!!

Agradeço da mesma maneira a colega Jaqueline Luber pelo apoio material e ensinamentos fornecidos no âmbito da morfometria geométrica. Sua ajuda foi fundamental para esse capítulo da minha tese.

Suelen, minha filha, sou grato pelos desafios proporcionados no Laboratório de Citogenética. Conseguimos germinar as sementes, mas o desafio está lançado para conseguir digerir as raízes, hehe.

Sou grato também ao lindo casal de amigos Vanessa e Timóteo pelas andanças na Serra do Valentim e auxílio na coleta de flores de *Freziera atlantica*. Amo a felicidade de vocês!!

Agradeço com muito carinho a todos os colegas e professores que fizeram e/ou fazem parte do Núcleo de Pesquisa Científica e Tecnológica em Meio Ambiente, Silvicultura e Ecologia (NUPEMASE) que direta ou indiretamente cooperaram no processo de elaboração desse trabalho e que me fizeram desfrutar da beleza da amizade com vocês. Atenção especial ao colega e grande amigo Eduardo Araújo que foi primordial na confecção dos mapas dos capítulos da tese.

Sou grato também a um monte de outras pessoas, mesmo na distância foram importantes para concretizar esse trabalho. A galera da APA do Pratigi pelo apoio logístico fundamental. Ao Joy e Lukas Daneu pelas andanças nas matas do sul da Bahia e coleta dos materiais botânicos de *Freziera atlantica*. Alguns nomes populares foram inventados naquela trilha. Ao apoio logístico que os meninos de Rio Claro (Cadu, Mococa, Xulera e Dylon) ofereceram e também pela amizade. Aos ensinamentos conquistados e a experiência no mundo da Fenologia proporcionados pela Prof^a. Dr^a Patrícia Morellato e seu comitê de orientação com pessoas extremamente capacitadas. À coleguinha, Fernanda Stefany Costa, pela paciência e auxílio nos detalhes científicos e técnicos da tese. Ao Daniel Santamaría-Aguilar que esteve presente no início da história de *Freziera atlantica*.

O que eu faria sem vocês?!!

BIOGRAFIA

João Paulo Fernandes Zorzanelli, filho de Rubens Angelo Zorzanelli e Leilimar Ramos Fernandes Zorzanelli, brasileiro, nascido em 20 de fevereiro de 1985 na cidade de Iúna, ES. É Engenheiro Florestal pela Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) formado em 2009 e Mestre em Ciências Florestais pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais da Universidade Federal do Espírito Santo (PPGCF-UFES), tendo obtido seu título em 2012. Cronista e poeta nas horas vagas, youtuber nos momentos de lazer. Amante da natureza, tem contribuído ativamente para o enriquecimento de coleções botânicas e catalogado diversas espécies para vários municípios na região sul do Espírito Santo, centro de Minas Gerais e sul da Bahia. Descreveu, junto a outros pesquisadores, duas espécies de plantas para a ciência. Uma sendo objeto de pesquisa de doutorado (Freziera atlantica Zorzanelli & Amorim), ocorrente na Bahia e no Espírito Santo, e outra endêmica do Parque Nacional do Caparaó (*Myrcia altomontana* Sobral & Zorzanelli). Foi homenageado emprestando seu nome a uma espécie de planta endêmica da Serra do Valentim (Siderasis zorzanellii M.Pell. & Faden). Em sua trajetória profissional, atuou como bolsista de Apoio Técnico de Nível Superior no Herbário VIES na gestão do acervo da referida coleção. Em março de 2015 ingressou no doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Florestais da Universidade Federal do Espírito Santo (PPGCF-UFES), defendendo sua tese em fevereiro de 2019.

RESUMO

ZORZANELLI, João Paulo Fernandes. **ASPECTOS BIOLÓGICOS DE Freziera atlantica Zorzanelli & Amorim (PENTAPHYLACACEAE)**. 2018. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) — Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sustanis Horn Kunz. Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Tatiana Tavares Carrijo.

Freziera é um gênero predominantemente andino pertencente à família Pentaphylacaceae. Freziera atlantica, descrita em 2015, é a única espécie do gênero conhecida para a Floresta Atlântica, sendo conhecida por poucas populações distribuídas exclusivamente nos estados do Espírito Santo e Bahia. Pelo fato da espécie ter sido descrita recentemente, os aspectos relacionados à sua biologia e ecologia são ainda desconhecidos, dificultando o estabelecimento de estratégias de conservação adequadas às suas populações. Desta forma, são objetivos deste trabalho: a) ampliar o conhecimento biológico da espécie e complementar sua descrição; e b) mensurar a diversidade genética populacional com base em marcadores moleculares (ISSR). Para atingir esses objetivos foram coletados materiais biológicos das populações conhecidas para a espécie, destinados: 1) ao estudo morfológico e taxonômico; e 2) à extração, quantificação e amplificação de fragmentos de DNA utilizados na fotodocumentação e contagem de bandas, proporcionando a estimativa da diversidade, similaridade e estruturação genética. Como principais resultados, classificamos a espécie como sendo ginodióica e complementamos a descrição utilizando informações de morfotipos bissexuais. Por fim, consideramos a diversidade genética alta na espécie com base em resultados encontrados para espécies bem relacionadas a *F. atlantica*, enquanto similaridade e estruturação mostraram baixa heterogeneidade genética. Nossos resultados permitiram preencher lacunas importantes ao conhecimento biológico de F. atlantica e fornecem oportunidades para conservação e para avanços nos estudos ecológico-funcional e biológico da espécie.

Palavras-chave: conservação biológica, diversidade genética, sistema sexual, taxonomia.

ABSTRACT

ZORZANELLI, João Paulo Fernandes. **BIOLOGICAL ASPECTS OF** *Freziera atlantica* Zorzanelli & Amorim (PENTAPHYLACACEAE). 2018. Tese (Doutorado em Ciências Florestais) – Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, ES. Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sustanis Horn Kunz. Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Tatiana Tavares Carrijo.

family Freziera is predominantly Andean genus belonging to the Pentaphylacaceae. Freziera atlantica, described in 2015, is the only known species of the genus for the Atlantic Forest, poorly known to few populations distributed exclusively in the states of Espírito Santo and Bahia. Because the species has been recently described, the aspects related to its biology and ecology is unknown, making it difficult to establish adequate conservation strategies for its populations. Thus, the goals of this work are: a) to expand the biological knowledge of the species and to complement its description; and b) to measure the population genetic diversity based on molecular markers (ISSR). To achieve these goals we obtained biological materials from the known populations of the species, intended for: 1) the study of morphology, taxonomy and geometric morphometry by means of images; and 2) the extraction, quantification and amplification of DNA fragments used in the photodocumentation and counting of bands, providing the estimation of diversity, similarity and genetic structuration. As main results, we classified the species as gynodioecious and we complement the description using information from bisexual morphotypes. Finally, we consider high genetic diversity based on results found for species well related to F. atlantica, while similarity and structure show low genetic heterogeneity. Our results have made it possible to fill important gaps in the biological knowledge of F. atlantica and provide opportunities for conservation and advances in ecological-functional and biological studies of the species.

Key-words: biological conservation, genetic diversity, sexual systems, taxonomy.

SUMÁRIO

1. ORGANIZAÇÃO DA TESE	
2. INTRODUÇÃO GERAL	
3. OBJETIVOS	
3.1. OBJETIVO GERAL	
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	
4. REVISÃO DE LITERATURA	
4.1. POSICIONAMENTO FILOGENÉTICO DE PENTAPHYLACACEAE	
4.2. DIVERSIDADE GENÉTICA DE ESPÉCIES DE PLANTAS COMO FERRAI	MENTA
PARA CONSERVAÇÃO	
4.3. SISTEMAS SEXUAIS DIMÓRFICOS EM PENTAPHYLACACEAE	
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
CAPÍTULO 1 - A FIRST RECORD OF Freziera (PENTAPHYLACACEAE) FRO	M THE
BRAZILIAN ATLANTIC FOREST, WITH THE DESCRIPTION OF A NEW SPECIES ^a	
1. INTRODUCTION	
2. MATERIALS AND METHODS	
3. TAXONOMIC TREATMENT	
4. COMMENTS ON THE GEOGRAPHIC DISTRIBUTION	
5. ACKNOWLEDGMENTS	
6. LITERATURE CITED	
CAPÍTULO 2 – NOTAS SOBRE A TAXONOMIA DE <i>Freziera atlantica</i> Zorzanelli & <i>A</i>	
(Pentaphylacaceae): REFINANDO A DESCRIÇÃO DA ESPÉCIEª	
1. INTRODUÇÃO	
2. MATERIAIS E MÉTODOS	
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	
4. AGRADECIMENTOS	
F. DEFEDÊNCIAS	
5. REFERÊNCIAS	
CAPÍTULO 3 - BASES PARA CONSERVAÇÃO GENÉTICA DE UMA ESPÉCIE LEI ENDÊMICA DO HOTSPOT DA FLORESTA ATLÂNTICAª	NHUSA
1. INTRODUÇÃO	
2. MÉTODOS	
2.1. LOÇAL DE COLETA E AMOSTRAGEM	
2.2. ANÁLISES MOLECULARES	
2.3. ANÁLISES DE DADOS	
3. RESULTADOS	
3.1. SELEÇÃO DE <i>PRIMERS</i> E NÚMERO ÓTIMO DE <i>LOCI</i>	
3.2. DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURAÇÃO INTRAPOPULACIONAL	
4. DISCUSSÃO	
4.1. SELEÇÃO DE <i>PRIMERS</i>	
4.2. DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURAÇÃO INTRAPOPULACIONAL	
5. IMPLICAÇÕES PARA CONSERVAÇÃO DE Freziera atlantica	
6. AGRADECIMENTOS	
7. REFERÊNCIAS	
6. CONCLUSÃO GERAL	
7. DIÁLOGO COM A SOCIEDADE	
7.1 CONHECENDO A ESPÉCIE	
7.1 CONNECENDO A ESPECIE	
7.2 DASES GENETICAS	

1. ORGANIZAÇÃO DA TESE

Esta tese de doutorado está estruturada em três capítulos: Inicialmente, foi realizada a descrição detalhada da espécie considerada (Capítulo 1), publicada no ano de 2016 na "Systematic Botany". Com base em coletas realizadas a partir do acompanhamento sistemático das diferentes etapas fenológicas da espécie, foi possível coletar as flores exclusivamente pistiladas, cuja descrição não foi apresentada no protólogo da espécie. Essas novas informações possibilitaram complementar a descrição da espécie, determinar seu sistema sexual e adicionar novas informações biológicas (Capítulo 2). A partir do conhecimento mais detalhado da biologia da espécie, foi possível avançar sobre os aspectos da diversidade genética intrapopulacional de *F. atlantica* (Capítulo 3).

2. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil é um dos países que mais contribuem com o maior número de espécies descritas por ano (CHRISTENHUSZ; BYNG, 2016), sendo o abrigo de 34459 espécies de plantas vasculares (BFG, 2018), das quais 18316 possuem distribuição restrita às vegetações do país (ULLOA et al., 2017).

Nos últimos anos, um desafio enfrentado pelos taxonomistas e pesquisadores da biodiversidade brasileira é catalogar as espécies da flora do Brasil para subsidiar propostas de conservação como determinado pela Estratégia Global para Conservação de Plantas (GSPC) (BFG, 2015). Floras regionais, como o Projeto Flora do Espírito Santo (ver DUTRA et al., 2015), Projeto Flora do estado do Rio de Janeiro (ver COELHO et al., 2017), Projeto Flora Fanerogâmica do estado de São Paulo (e.g. WANDERLEY et al., 2001) e Projeto Flora do Estado de Sergipe (ver PRATA et al., 2013) foram implementadas para auxiliar a alcançar essa meta, entretanto alguns táxons ainda permanecem negligenciados, como Pentaphylacaceae.

Pentaphylacaceae é uma família composta de Angiospermas representada por 12 gêneros e 330 espécies distribuindo-se nos trópicos e subtrópicos de todo o mundo, com algumas poucas espécies na África. No neotrópico, Pentaphylacaceae está representada por quatro gêneros (*Cleyera*, *Freziera*, *Symplococarpon* e

Ternstroemia), dos quais somente Ternstroemia havia sido atribuída ao Brasil na Lista de Espécies da Flora do Brasil (FORZZA et al., 2010).

Freziera Willd. (Pentaphylaceae) é um gênero neotropical que abarca aproximadamente 57 espécies. Os representantes do gênero distribuem-se pelo México, Bolívia, Venezuela e Antilhas, com centro de diversidade nas montanhas andinas (MABBERLEY et al. 2008; SANTAMARÍA-AGUILAR et al. 2014). A Lista de Espécies da Flora do Brasil (FORZZA et al. 2010) não reportou a ocorrência de espécies de Freziera para as vegetações brasileiras. Entretanto, Sobral e Bittrich (2015) incluíram um primeiro registro para o gênero à flora brasileira, Freziera carinata A.L.Weitzman, com ocorrência no estado do Amazonas, em região limítrofe à Venezuela.

O gênero pode ser reconhecido por apresentar árvores ou arbustos, com folhas dísticas, venação secundária paralela, corola urceolada, flores funcionalmente unissexuais dioicas, ginodioicas, estigma 3-5 lobado e frutos bacáceos com estilete aparente (KOBUSKI, 1941; WEITZMAN, 1987; EVERY, 2009).

Poucos estudos relacionados aos representantes de *Freziera* têm sido realizados nos últimos anos, como descrições de algumas novas espécies (SANTAMARÍA-AGUILAR et al., 2014; SANTAMARÍA-AGUILAR; ORTIZ, 2016; SANTAMARÍA-AGUILAR et al., 2016; ZORZANELLI et al., 2016; SANTAMARÍA-AGUILAR; MONRO, 2019) e experimentos silviculturais e fitopatológicos (VALLEJO et al., 2012; MUÑOZ et al., 2013).

Embora esses progressos tenham sido realizados, o conhecimento sobre o gênero ainda é escasso, faltando informações sobre os aspectos ecológicos e biológicos das espécies até informações moleculares que refinam as análises da história evolutiva e diversificação do táxon e determinam também a elaboração de estratégias eficientes de conservação dos recursos genéticos. Esses desafios devem servir como estímulo às investigações mais profundas com a premissa de preencher lacunas de conhecimento e apoiar aspectos de conservação das espécies de *Freziera*, levando em consideração aspectos ecológicos e biogeográficos.

Recentemente, uma nova espécie de *Freziera*, com distribuição disjunta em relação às demais, foi descrita para a Floresta Atlântica. Esse novo táxon foi nomeado como *Freziera atlantica* Zorzanelli & Amorim (ZORZANELLI et al., 2016), sendo conhecido por apenas duas populações nos estados da Bahia e do Espírito Santo.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Este trabalho tem por objetivo caracterizar aspectos biológicos de *Freziera* atlantica.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Relatar uma nova ocorrência de gênero e descrever uma nova espécie.
- b) Complementar a descrição da espécie e caracterizar sua biologia floral.
- c) Caracterizar a diversidade genética intrapopulacional da espécie.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. POSICIONAMENTO FILOGENÉTICO DE PENTAPHYLACACEAE

A classificação de plantas, por meio dos avanços na sistemática filogenética, tem gerado novos posicionamentos e circunscrições dentro de ordens e famílias, considerando ao mesmo tempo um contexto evolutivo, a exemplo das classificações para Angiospermas (THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP, 1998; 2003; 2009; 2016).

Relações dentro de clados ainda pouco resolvidos foram sendo explorados e estabelecidos, como para alguns táxons em Ericales. A ordem, por apresentar famílias com muitos caracteres derivados e não exclusivos (ANDERBERG, 2002), foi considerada moniflética com base em dados moleculares (SOLTIS et al., 2000). Apesar da diversidade morfológica das flores de Ericales, especialmente no androceu (CHARTIER et al., 2017), não existe claramente uma sinapomorfia biológica associada à ordem que dê suporte à sua monofilia (SCHÖNENBERGER et al., 2005; ROSE et al., 2018).

Verificando relações intrafamiliares, com uso de genes plastidiais (*rbcL*, *ndhF* e *atpB*) e genes mitocondriais (*atp1* e *matR*), Anderberg et al. (2002) mostraram que Theaceae era a única família parafilética, sugerindo a segregação do táxon em Theaceae (agregando as Theaceae s.s.) e Ternstroemiaceae (agregando as Theaceae-Ternstroemioideae), com alto suporte (97%) pela análise de *jackknife*. *Pentaphylax* (Pentaphylacaceae) consistiu de um clado irmão de Ternstroemiaceae,

seguido de *Sladenia* e *Ficalhoa*, ambas consideradas na família Sladeniaceae (WEITZMAN et al., 2004). Prince e Parks (2001) já haviam reconhecido as subfamílias Theoideae e Ternstroemioideae como duas famílias distintas, Theaceae e Ternstroemiaceae, usando genes plastidiais (*rbcL* e *matK*). Filogenia com dados morfológicos (LUNA; OCHOTERENA, 2004) também indicou monofiletismo em Ternstroemiaceae, agregando os gêneros *Adinandra*, *Anneslea*, *Archboldiodendron*, *Balthasaria*, *Cleyera*, *Eurya*, *Euryodendron*, *Ficalhoa*, *Freziera*, *Symplococarpon*, *Ternstroemia* e *Visnea*.

Em uma nova revisão das angiospermas, considerando reposicionamento de diversas famílias, The Angiosperm Phylogeny Group (2009) considerou Pentaphylacaceae como uma família agregando as Ternstroemiaceae devido a características muito comuns em ambas, com Sladeniaceae sendo um clado irmão (Figura 1). Em uma abordagem recente, utilizando sequências de DNA nrITS e trnL-F, Tsou et al. (2016) sugeriram unir as famílias Pentaphylacaceae e Sladeniaceae em uma megafamília Pentaphylacaceae s.l., constituída pelas tribos Sladenieae, Pentaphylaceae, Ternstroemieae e Freziereae, embora ainda Pentaphylacaceae seja reconhecida separada de Sladeniaceae pela APG IV (THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP, 2016).



Figura 1. Posicionamento filogenético atual de Pentaphylacaceae. Fonte: Stevens, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 14, July 2017 [and more or less continuously updated since]. Acessado em: http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/.

A tribo Freziereae é a mais diversa sendo representada por nove gêneros (WEITZMAN et al., 2004): *Adinandra, Archboldiodendron, Balthasaria, Cleyera, Eurya, Euryodendron, Freziera, Symplococarpon* e *Visnea*. Seus representantes são reconhecidos por apresentarem esclereídes ligeiramente ramificados dispersos nas folhas, flores solitárias ou unidas, algumas vezes nas axilas foliares, placentação apical e sementes 4-6 mm ou menores (WEITZMAN et al., 2004).

4.2. DIVERSIDADE GENÉTICA DE ESPÉCIES DE PLANTAS COMO FERRAMENTA PARA CONSERVAÇÃO

As variações nos níveis de diversidade genética direcionam o funcionamento dos ecossistemas, manutenção da biodiversidade, aptidão das espécies a mudanças ambientais, estruturação das comunidades, viabilidade de populações e fluxo de energia e nutrientes (HUGHES et al., 2008; BANKS et al., 2013). A evolução das espécies é dependente dessa variação genética e dos processos intrínsecos que conduzem o mecanismo evolutivo como seleção natural, migração, fluxo gênico e deriva genética (FRANKHAM, 2010).

O fluxo gênico é uma das forças evolutivas importantes na estruturação da diversidade genética de populações de plantas, pois varia no tempo, dentro e entre espécies e populações, sendo dependente de diversos mecanismos como ambiente, história, isolamento e demografia (ELLSTRAND, 2014; ELLSTRAND, 2016). Eventos estocásticos, seletivamente neutros (deriva genética), também são condutores fundamentais da variação genética das populações e, em termos de pesquisa, estão em larga evidência no contexto atual de distúrbios humanos (HOLDEREGGER et al., 2006; BANKS et al., 2013), pois direcionam à erosão genética, aumento da divergência entre populações e reduzem o fluxo gênico (YOUNG et al., 1996).

Uma demanda que impulsiona as aplicações de ferramentas moleculares, como a diversidade genética, são os recentes acordos globais para mitigação das emissões de carbono. Uma das metas ambiciosas para redução do carbono atmosférico assinada no Acordo de Paris das Nações Unidas é a restauração de áreas degradadas, as quais o Brasil se comprometeu a restaurar 12 milhões de hectares (BRAZIL iNDC, 2015; FERNANDES et al., 2018). Conhecer os efeitos de pressões antrópicas sobre a evolução dos ecossistemas e espécies, por meio da estimativa dos níveis de variação genética, é um passo fundamental à proposição de

políticas de conservação. Também, a relação entre formuladores de propostas e geneticistas precisa ser mais próxima (EDWARS, 2017).

Embora existam lacunas evidentes na transferência de conhecimento (BRITT et al., 2018; TORRES-FLOREZ et al., 2018) e aplicação da diversidade genética nos princípios de resiliência da restauração ecológica (AAVIK; HELM, 2017), nos últimos anos a utilização de dados moleculares para conservação de espécies e ecossistemas estão ampliando. Diversidade genética em espécies de plantas endêmicas e ameaçadas de extinção tem sido avaliada em várias partes do planeta trazendo implicações significativas à conservação, por exemplo para *Abies cilicica* Carr. (AWAD et al., 2014), Abies koreana E.H. Wilson (KWAK et al., 2017) e Swartzia glazioviana (Taub.) Glaz. (SPOLADORE et al., 2017).

A caracterização dos padrões de variação genética das espécies de plantas dentro e entre populações gera informações sobre as condições de estruturação genética das espécies, fornecendo dados importantes para condução de estratégias conservacionistas (e.g. MELO et al., 2014; MEDINA-MACEDO et al., 2015; VINSON et al., 2015; PEÑAS et al., 2016). Além disso, descrever esses padrões auxilia a predizer os efeitos da fragmentação florestal (e.g. YOUNG et al., 1996; MONA et al., 2014) e mudanças climáticas globais (e.g. PAULS et al., 2013) sobre a diversidade genética.

Desse modo, as questões e políticas relacionadas à conservação da biodiversidade precisam considerar como elemento chave a diversidade genética intra e inter-específica dentro e entre populações.

4.3. SISTEMAS SEXUAIS DIMÓRFICOS EM PENTAPHYLACACEAE

Determinar o sistema sexual das plantas é uma prática fundamental ao entendimento da biologia reprodutiva e auxilia definir estratégias para estudos mais avançados ao nível de populações e comunidades e também estratégias para conservação das espécies.

Em nível global, a maior parte das plantas com flores é constituída por taxas monomórficos (e.g. RENNER; RICKLEFS, 1995; MATALLANA et al., 2005), onde cada indivíduo possui flores unissexuais e/ou flores bissexuais (BAWA; BEACH, 1981). Outra parcela considerada rara, mas não menos importante, é composta por plantas dimórficas, sendo representadas pelas espécies dióicas (5-6%, ver

RENNER, 2014), onde indivíduos pistilados e estaminados coexistem separadamente.

Evolutivamente, dioicia tem aparecido repetidamente na história de vida das plantas originada do hermafroditismo (CHARLESWORTH, 2002). O processo evolutivo da diocia, segundo estudos empíricos, tem sido associado a mecanismos ambientais estressantes (e.g. ASHMAN, 2006; QUEENBOROUGH et al., 2009; BARRETT, 2010). Recentemente, REJOU-MECHAIN e CHEPTOU (2015) mostraram fortes evidências de que florestas naturais em estágio sucessional inicial apresentam maior frequência de espécies dioicas. Estudos anteriores (e.g. GOLENBERG; WEST, 2013) também têm demonstrado que processos hormonais que regulam o desenvolvimento floral agem na evolução sexual em plantas dioicas. Esse processo influencia diretamente mudanças em regiões genômicas mais comumente ligadas ao sexo, levando à feminização do cromossomo X e masculinização do cromossomo Y (ZEMP et al., 2016; CHARLESWORTH, 2018).

Um estado de transição raro, mas amplamente distribuído nas angiospermas, é a ginodioicia (VAN DE PAER et al., 2015; CARUSO et al., 2016), onde indivíduos pistilados e bissexuais coocorrem em uma mesma espécie (DUFAY; BILLARD, 2012; RENNER, 2014). A raridade da ginodioicia foi estudada por Rivkin et al. (2016) utilizando modelos filogenéticos, que detectaram altas taxas de evolução para ginodioicia e também altas taxas de reversão para estados não ginodióicos em Lamiaceae. Ginodioicia nesta família foi correlacionada com a forma de vida herbácea e distribuição geográfica subtropical. Entretanto, o fato de ser um sistema sexual bem distribuído pode estar associado a um sistema de determinação citonuclear (DUFAY; BILLARD, 2012; GOLDBERG et al., 2017), uma questão já levantada para algumas espécies ginodioicas (e.g. ASHMAN et al., 2015), onde genes nos cromossomos sexuais atuam na esterilidade ou restauração masculina e feminina em flores hermafroditas (PANNELL; GERCHEN, 2018).

A distribuição sexual dentro da ginodioicia é variável, dependente de fatores associados à deriva genética e aptidão de cada sexo no ambiente (e.g. frequência, limitação de polinização, disponibilidade de recursos, entre outros) (McCAULEY; BAILEY, 2009). De toda maneira, os sexos estão espacialmente agregados dentro das populações (CASTILLA et al., 2012). Na ginodioicia, os indivíduos pistilados apresentam aptidão apenas para produção de sementes, enquanto hermafroditas contribuem com produção de pólen e sementes (VAN DER MEER et al., 2017).

Todavia, aptidão para maior produção de sementes em indivíduos pistilados em relação a hermafroditas depende de uma série de fatores como frequência de fêmeas, tamanho da população e limitações de polinização (DE CAUWER et al., 2010; SPLIGER; ASHMAN, 2012; STONE; OLSON, 2017; VAN DER MEER et al., 2017).

Em *Daphne jezoensis* Maxim., um arbusto, Sinclair et al. (2016) observaram que indivíduos pistilados tinham aptidão para menos flores e maior produção de frutos, enquanto hermadroditas produziam mais flores e menos frutos, mesmo sob polinização manual. Nesse caso, a espécie funcionalmente foi considerada dioica, com hermafroditas tendo função masculina. Em populações marginais de *Daphne laureola* L., Castilla et al. (2016) observaram que plantas pistiladas apresentaram baixa qualidade do pólen em função da alta intensidade de polinização nessa populações.

Apesar dos trabalhos existentes no universo reprodutivo de plantas ginodioicas, é necessário avançar também para outras espécies e formas de vida. Sistemas sexuais e sistemas de cruzamento aliados às interações com ambiente e polinizadores são o cerne da produtividade das plantas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AAVIK, T.; HELM, A. Restoration of plant species and genetic diversity depends on landscape-scale dispersal. **Restoration Ecology**, v.26, n.S2, p.S92-S102, 2017.

ANDERBERG, A.A.; RYDIN, C.; KÄLLERSJÖ, M. Phylogenetic relationships in the order Ericales s.l.: analyses of molecular data from five genes from the plastid and Mitochondrial genomes. **American Journal of Botany**, v.89, n.4, p.677-687, 2002.

ASHMAN, T.-L. The evolution of separate sexes: a focus on the ecological context. In: HARDER, L.D.; BARRETT, S.C.H. (Eds.). **Ecology and evolution of flowers**. Oxford, UK: Oxford University Press, 2006. p.204-222.

ASHMAN, T.-L.; TENNESSEN, J.A.; DALTON, R.M.; GOVINDARAJULU, R.; KOSKI, M.H.; LISTON, A. Multilocus sex determination revealed in two populations of gynodioecious wild strawberry, *Fragaria vesca subsp. bracteata*. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v.5, n.12, p.2759-2773, 2015.

AWAD, L.; FADY, B.; KHATER, C.; ROIG, A.; CHEDDADI, R. Genetic structure and diversity of the endangered fir tree of Lebanon (*Abies cilicica* Carr.): implications for conservation. **Plos One**, v.9, n.2, p.e90086, 2014.

BANKS, S.C.; CARY, G.F.; SMITH, A.L.; DAVIES, I.D.; DRISCOLL, D.A.; GILL, A.M.; LINDENMEYER, D.B.; PEAKALL, R. How does ecological disturbance influence genetic diversity? **Trends in Ecology & Evolution**, v.28, n.11, p.670-679, 2013.

BAWA, K.S.; BEACH, J.H. Evolution of sexual systems in flowering plants. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.68, n.2, p.254-274, 1981.

BFG (THE BRAZIL FLORA GROUP) Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v.66, n.4, p.1085-1113, 2015.

BFG (THE BRAZIL FLORA GROUP) Brazilian flora 2020: innovation and collaboration to meet target 1 of the global strategy for plant conservation (GSPC). **Rodriguésia**, v.69, n.4, p.1513-1527, 2018.

Brazil iNDC. Federative Republic of Brazil Intended Nationally Determined Contribution Towards Achieving the Objective of the United Nations Framework Convention on Climate Change, 2015. Acesso em: http://www4.unfccc.int/submissions/INDC/Published%20Documents/Brazil/1/BRAZIL%20iNDC%20english%20FINAL.pdf.

BRITT, M.; HAWORTH, S.E.; JOHNSON, J.B.; MARTCHENKO, D.; SHAFER, A.B.A. The importance of non-academic coauthors in bridging the conservation genetics gap. **Biological Conservation**, v.218, p.118-123, 2018.

CARUSO, C.M.; EISEN, K.; CASE, A.L. An angiosperm-wide analysis of the correlates of gynodioecy. **International Journal of Plant Sciences**, v.177, n.2, p.115-121, 2016.

CASTILLA, A.R.; WIEGAND, T.; ALONSO, C.; HERRERA, C.M. Disturbance-dependent spatial distribution of sexes in a gynodioecious understory shrub. **Basic and Applied Ecology**, v.13, p.405-413, 2012.

CASTILLA, A.R.; ALONSO, C.; HERRERA, C.M. To be or not to be better pollinated: differences between sex morphs in marginal gynodioecious populations. **American Journal of Botany**, v.103, n.3, p.1-8, 2016.

CHARLESWORTH, D. Plant sex determination and sex chromosomes. Heredity, v.88, p.94-101, 2002.

CHARLESWORTH, D. Does sexual dimorphism in plants promote sex chromosome evolution? **Environmental and Experimental Botany**, v.146, p.5-12, 2018.

CHARTIER, M.; LÖFSTRAND, S.; VON BALTHAZAR, M.; GERBER, S.; JABBOUR, F.; SAUQUET, H.; SCHÖNENBERGER, J. How (much) do flowers vary? Unbalanced disparity among flower functional modules and a mosaic pattern of morphospace occupation in the order Ericales. **Proceedings of the Royal Society B**, v.284, 20170066, 2017.

CHRISTENHUSZ, M.J.M.; BYNG, J.W. The number of known plants species in the world and its annual increase. **Phytotaxa**, v.261, n.3, p.201-217, 2016.

COELHO, M.A.M.; BAUMGRATZ, J.F.A.; LOBÃO, A.Q.; SYLVESTRE, L.S.; TROVÓ, M.; SILVA, L.A.E. Flora of Rio de Janeiro state: an overview of Atlantic Forest diversity. **Rodriguésia**, v.68, n.1, p.1-11, 2017.

DE CAUWER, I.; DUFAY, M.; CUGUEN, J.; ARNAUD, J.-F. Effects of fine-scale genetic structure on male mating success in gynodioecious *Beta vulgaris ssp. maritima*. **Molecular Ecology**, v.19, p.1540-1558, 2010.

DUFAY, M.; BILLARD, E. How much better are females? The occurrence of female advantage, its proximal causes and its variation within and among gynodioecious species. **Annals of Botany**, v.109, p.505-519, 2012.

DUTRA, V.F.; ALVES-ARAÚJO, A.; CARRIJO, T.T. Angiosperm checklist of Espírito Santo: using electronic tools to improve the knowledge of an Atlantic Forest biodiversity hotspot. **Rodriguésia**, v.66, n.4, p.1145-1152, 2015.

EDWARDS, C.E. Strengthening the link between international conservation policy and plant conservation genetics to achieve more effective plant conservation. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.102, n.2, p.397-407, 2017.

ELLSTRAND, N.C. Is gene flow the most important evolutionary force in plants? **American Journal of Botany**, v.101, n.5, p.737-753, 2014.

ELLSTRAND, N.C. When gene flow really matters: gene flow in applied evolutionary biology. **Evolutionary Applications**, v.9, p.833-836, 2016.

EVERY, J.L.R. Neotropical Pentaphylacaceae. In: MILLIKEN, W.; KLITGÅRD, B.; BARACAT, A., **Neotropikey**: Interactive key and information resources for flowering plants of the neotropics, 2009.

http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Pentaphylacaceae.htm.

FERNANDES, G.W.; BANHOS, A.; BARBOSA, N.P.U.; BARBOSA, M.; BERGALLO, H.G.; LOUREIRO, C.G.; OVERBECK, G.E.; SOLAR, R.; STRASSBURG, B.B.N.; VALE, M.M. Restoring Brazil's road margins could help the country offset its CO2 emissions and comply with the Bonn and Paris Agreements. **Perspectives in Ecology and Conservation**, v.16, n.2, p.105-112, 2018.

FORZZA, R.F. et al. **Catálogo de plantas e fungos do Brasil**. v.2. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2010.

FORZZA, R.C. et al. New brazilian floristic list highlights conservation challenges. **Bioscience**, v.62, n.1, p.39-45, 2012.

FRANKHAM, R. Challenges and opportunities of genetic approaches to biological conservation. **Biological Conservation**, v.143, p.1919-1927, 2010.

GOLDBERG, E.E.; OTTO, S.P.; VAMOSI, J.C.; MAYROSE, I.; SABATH, N.; MING, R.; ASHMAN, T.-L. Macroevolutionary synthesis of flowering plant sexual systems. **Evolution**, v.71, n.4, p.898-912, 2017.

- GOLENBERG, E.M.; WEST, N.W. Hormonal interactions and gene regulation can link monoecy and environmental plasticity to the evolution of dioecy in plants. **American Journal of Botany**, v.100, n.6, p.1022-1037, 2013.
- HOLDEREGGER, R.; KAMM, U.; GUGERLI, F. Adaptive vs. neutral genetic diversity: implications for landscape genetics. **Landscape Ecology**, v.21, n.6, p.797-807, 2006.
- HUGHES, A.R.; INOUYE, B.D.; JOHNSON, M.T.J.; UNDERWOOD, N.; VELLEND, M. Ecological consequences of genetic diversity. **Ecology Letters**, v.11, p.609-623, 2008.
- JURADO, H.R.O.; GUERRERO, D.A.M.; POSSU, W.B.; CHAMORRO, G.C.; GONZÁLEZ, J.M. Estimación de la biomasa aérea y captura de carbono en árboles dispersos en potreros con motilon silvestre (*Freziera canescens*) en el Municipio de Pasto Nariño Colombia. **Revista de Ciencias Agrícolas** v.24, n.1 y 2, 2007.
- KOBUSKI, C.E. **Studies in the Theaceae, VIII**: a synopsis of the genus *Freziera*. Journal of the Arnold Arboretum, v.22, n.4, 457-496, oct., 1941. KWAK, M.; HONG, J.-K.; PARK, J.H.; LEE, B.Y.; SUH, M.H.; KIM, C.S. Genetic assessment of *Abies koreana* (Pinaceae), the endangered Korean fir, and conservation implications. **Conservation Genetics**, 18, p.1165-1176, 2017.
- LUNA, I.; OCHOTERENA, H. Phylogenetic relationships of the genera of Theaceae based on morphology. **Cladistics**, v.20, p.223-270, 2004.
- MABBERLEY, D.J. **Mabberley's plant book**: a portable dictionary of plants, their classifications, and uses. Ed. 3. Cambridge: Cambridge University Press, 2008.
- MATALLANA, G.; WENDT, T.; ARAÚJO, D.S.D.; SCARANO, F.R. High abundance of dioecious plants in a tropical coastal vegetation. **American Journal of Botany**, v.92, n.9, p.1513-1519, 2005.
- McCAULEY, D.E.; BAILEY, M.F. Recent advances in the study of gynodioecy: the interface of theory and empiricism. **Annals of Botany**, v.104, p.611-620, 2009.
- MEDINA-MACEDO, L.; SEBBENN, A.M.; LACERDA, A.E.B.; RIBEIRO, J.Z.; SOCCOL, C.R.; BITTENCOURT, J.V.M. High levels of genetic diversity through pollen flow of the coniferous Araucaria angustifolia: a landscape level study in Southern Brazil. **Tree Genetics & Genomes**, v.11, 814, 2015.
- MELO, A.T.O.; COELHO, A.S.G.; PEREIRA, M.F.; BLANCO, A.J.V.; FRANCESCHINELLI, A.V. High genetic diversity and strong spatial genetic structure in *Cabralea canjerana* (Vell.) Mart. (Meliaceae): implications to Brazilian Atlantic Forest tree conservation. **Natureza & Conservação**, v.12, n.2, p.129-133, 2014.
- MUNHOZ, D.A.; CALVACHE, D.A.; YELA, J.F. Especies forestales con potencial agroforestal para las zonas altas en el Departamento de Nariño. **Revista de Ciencias Agrícolas** v.29, n.1, p.38-53, 2013.

- PANNELL, J.R.; GERCHEN, J. Sex determination: sterility genes out of sequence. **Current Biology**, v.28, p.R66-R88, 2018.
- PAULS, S.U.; NOWAK, C.; BÁLINT, M.; PFENNINGER, M. The impact of global climate change on genetic diversity within populations and species. **Molecular Ecology**, v.22, p.925-946, 2013.
- PEÑAS, J.; BARRIOS, S.; BOBO-PINILLA, J.; LORITE, J.; MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. Designing conservation strategies to preserve the genetic diversity of *Astragalus edulis* Bunge, an endangered species from western Mediterranean region. **Peer J**, v.4, e1474, 2016.
- PRATA, A.P.N.; AMARAL, M.C.E.; FARIAS, M.C.V.; ALVES, M.V. Flora de Sergipe. v.1. Aracaju: Gráfica e Editora Triunfo, 2013.
- PRINCE, L.M.; PARKS, C.R. Phylogenetic relationships of Theaceae inferred from chloroplast DNA sequence data. **American Journal of Botany**, v.88, n.12, p.2309-2320, 2001.
- QUEENBOROUGH, S.A.; MAZER, S.J.; VAMOSI, S.M.; GARWOOD, N.C.; VALENCIA, R.; FRECKLETON, R.P. Seed mass, abundance and breeding system among tropical forest species: do dioecious species exhibit compensatory reproduction or abundances? **Journal of Ecology**, v.97, p.555-566, 2009.
- RENNER, S.S.; RICKLEFS, R.E. Dioecy and its correlates in the flowering plants. **American Journal of Botany**, v.82, n.5, p.596-606, 1995.
- RENNER, S.S. The relative and absolute frequencies of angiosperm sexual systems: dioecy, monoecy, gynodioecy, and an updated online database. **American Journal of Botany**, v.101, n.10, p.1588-1596, 2014.
- REJOU-MECHAIN, M.; CHEPTOU, P.-O. High incidence of dioecy in young successional tropical forests. **Journal of Ecology**, v.103, p.725-732, 2015.
- RIVKIN, L.R.; CASE, A.L.; CARUSO, C.M. Why is gynodioecy a rare but widely distributed sexual system? Lessons from the Lamiaceae. **New Phytologist**, v.211, p.688-696, 2016.
- ROSE, J.P.; KLEIST, T.J.; LÖFSTRAND, S.D.; DREW, B.T.; SCHÖNENBERGER, J.; SYTSMA, K.J. Phylogeny, historical biogeography, and diversification of angiosperm order Ericales suggest ancient Neotropical and East Asian connections. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v.122, p.59-79, 2018.
- SANTAMARÍA-AGUILAR, D.; MONRO, A.K.; JIMÉNEZ-MADRIGAL, Q.; LAGOMARSINO, L.P. Two new species of *Freziera* (Pentaphylacaceae) from Costa Rica. **Harvard Papers in Botany**, v.19, n.2, p.219-225, 2014.
- SANTAMARÍA-AGUILAR, D.; ORTÍZ, R.C. Freziera dasycarpa (Pentaphylacaceae), a new species from the montane forest of Antioquia, Colombia. **Phytotaxa**, v.263, n.3, p.279-285, 2016.

SANTAMARÍA-AGUILAR, D.; NEILL, D.A.; LAGOMARSINO, L.P. A new species of *Freziera* (pentaphylacaceae) from ecuador, with large leaves and flowers. **Edinburgh Journal of Botany**, v.73, n.1, p.1-6, 2016.

SANTAMARÍA-AGUILAR, D.; MONRO, A.K. Compendium of *Freziera* (Pentaphylacaceae) of South America including eleven new species and the typification of 22 names. **Kew Bulletin**, v.74, 14, 2019.

SCHÖNENBERGER, J.; ANDERBERG, A.A.; SYTSMA, K.J. Molecular phylogenetics and patterns of floral evolution in the Ericales. **International Journal of Plant Sciences**, v.166, n.2, p.265-288, 2005.

SOBRAL, M.E.G.; BITTRICH, V. Pentaphylacaceae. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB135637>. Acesso em: 23 out. 2015.

SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S.; CHASE, M.W.; MORT, M.E.; ALBACK, D.C.; ZANIS, M.; SAVOLAINEN, V.; HAHN, W.H.; HOOT, S.B.; FAY, M.F.; AXTELL, M.; SWENSEN, S.M.; PRINCE, L.M.; KRESS, W.J.; NIXON, K.C.; FARRIS, J.S. Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, *rbcL*, and *atpB* sequences. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.133, p.381-461, 2000.

SPLIGER, R.B.; ASHMAN, T.-L. Gynodioecy to dioecy: are we there yet? **Annals of Botany**, v.109, p.531-543, 2012.

SPOLADORE, J.; MANSANO, V.F.; LEMES, M.R.; FREITAS, L.C.D.; SEBBENN, A.M. Genetic conservation of small populations of the endemic tree *Swartzia glazioviana* (Taub.) Glaz. (Leguminosae) in the Atlantic Forest. **Conservation Genetics**, v.18, p.1105-1117, 2017.

STONE, J.D.; OLSON, M.S. Pollination context alters female advantage in gynodioecious *Silene vulgaris*. **Journal of Evolutionary Biology**, v.31, p.111-122, 2017.

THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP An ordinal classification for the families of flowering plants. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.85, n.4, p.531-553, 1998.

THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.141, p.399-436, 2003.

THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.161, p.105-121, 2009.

THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.181, p.1-20, 2016.

- THIERS, B. **Index Herbariorum**: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's virtual herbarium, 2014.
- TORRES-FLOREZ, J.P.; JOHNSON, W.E.; NERY, M.F.; EIZIRIK, E.; OLIVEIRA-MIRANDA, M.A.; GALETTI JR, P.M. The coming of age of conservation genetics in Latin America: what has been achieved and what needs to be done. **Conservation Genetics**, v.19, p.1-15, 2018.
- TSOU, C.-H.; LI, L.; VIJAYAN, K. The intra-familial relationships of Pentaphylacaceae s.l. as revealed by DNA sequence analysis. **Biochemical Genetics**, v.54, p.270-282, 2016.
- ULLOA, C.U.; ACEVEDO-RODRÍGUEZ, P.; BECK, S. et al. An integrated assessment of the vascular plant species of the Americas. **Science**, v.358, n.6370, p.1614-1617, 2017.
- VALLEJO, M.F.; PRADO, Y.; BETANCOURTH, G.; MOLINA, L.A.; GONZÁLEZ, C.S. Determinación del agente causante de la mancha ceniza del Motilón Silvestre (*Freziera canescens*). **Revista de Ciencias Agrícolas** v.29, n.1, p.70-80, 2012.
- VAN DER MEER, S.; SEBRECHTS, T.; VANDERSTRAETEN, S.; JACQUEMYN, H. The female advantage in natural populations of gynodioecious *Plantago coronopus*: seed quantity vs. offspring quality. **Oecologia**, v.185, n.4, p.653-662, 2017.
- VAN DE PAER, C.; SAUMITOU-LAPRADE, P.; VERNET, P.; BILLIARD, S. The joint evolution and maintenance of self-incompatibility with gynodioecy or androdioecy. **Journal of Theorical Biology**, v.371, p.90-101, 2015.
- VINSON, C.C.; DAL'SASSO, S.S.; SUDRÉ, C.P.; MANGARAVITE, E.; OLIVEIRA, L.O. Population genetics of the naturally rare tree *Dimorphandra wilsonii* (Caesalpinioideae) of the Brazilian Cerrado. **Tree Genetics & Genomes**, v.11, 46, 2015.
- WANDERLEY, M.G.L.; SHEPHERD, G.J.; GIULIETTI, A.M. Flora fanerogâmica do estado de São Paulo. v.1. São Paulo: FAPESP, HUCITEC, 2001.
- WEITZMAN, A. Taxonomic studies in *Freziera* (Theaceae), with notes on reproductive biology. **Journal of the Arnold Arboretum**, v.68, p.323-334, 1987.
- WEITZMAN, A.L.; DRESSLER, S.; STEVENS, P.F. Ternstroemiaceae. In: KUBITZKI, L. (Ed.). **Flowergin plants. Dicotyledons VI**: Celastrales, Oxalidales, Rosales, Cornales, Ericales. Heidelberg: Springer-Verlag, p.450-460, 2004.
- YOUNG, A.; BOYLE, T.; BROWN, T. The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. **Trends in Ecology & Evolution**, v.11, n.10, p.413-418, 1996.
- ZEMP, N.; TAVARES, R.; MUYLE, A.; CHARLESWORTH, D.; MARAIS, G.A.B.; WIDMER, A. Evolution of sex-biased gene expression in a dioecious plant. **Nature Plants**, 16168, 2016.

ZORZANELLI J.P.F.; CARRIJO, T.T.; FIASCHI, P.; JARDIM, J.G.; SANTAMARÍA-AGUILAR, D.; AMORIM, A.M. A first record of *Freziera* (Pentaphylacaceae) from the Brazilian Atlantic Forest, with the description of a new species. **Systematic Botany**, v.40, n.4, p.1075-1080, 2016.

CAPÍTULO 1 - A FIRST RECORD OF *FREZIERA* (PENTAPHYLACACEAE) FROM THE BRAZILIAN ATLANTIC FOREST, WITH THE DESCRIPTION OF A NEW SPECIES^a

João Paulo F. Zorzanelli¹, Tatiana Carrijo², Pedro Fiaschi³, Jomar G. Jardim⁴, Daniel S. Aguillar⁵ and André M. Amorim^{6,7,8,9}

²Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Biologia, 29500-000, Alegre, Espírito Santo, Brazil.

Abstract: Freziera atlantica is described and illustrated. The species resembles *F. grisebachii* in terms of the size and shape of its leaves but differs especially by the serrate and villous margin of the leaf blade and larger petals. The new species is known from two disjunct localities in the Atlantic Forest of Brazil, in extremely endangered environments. All known specimens of *F. atlantica* were collected within the last three years. This new generic record for the Brazilian Atlantic Forest highlights the need for further floristic studies of forest remnants in the states of Bahia and Espírito Santo.

Keywords: Bahia, disjunction, Espírito Santo, taxonomy, Ternstroemiaceae, Theaceae.

_

¹Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-graduação em Ciências Florestais, 29.550-000, Jerônimo Monteiro, Espírito Santo, Brazil.

³Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Trindade, 88.040-900, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil.

⁴Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências, Departamento de Botânica, Ecologia e Zoologia, Centro de Biociências, 59.078-970, Natal, Rio Grande do Norte, Brazil.

⁵Harvard University Herbarium, 02.138-2020, Cambridge, Massachusetts, U.S.A.

⁶Universidade Estadual de Santa Cruz, Departamento de Ciências Biológicas, Rodovia Ilhéus-Itabuna, 45.662-900, Ilhéus, Bahia, Brazil.

⁷Herbário Centro de Pesquisas do Cacau, CEPEC, Rodovia Ilhéus-Itabuna, 45.650-970, Ilhéus, Bahia, Brazil.

⁸Universidade Estadual de Feira de Santana, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Botânica, Av. Transnordestina, 44.036-900, Feira de Santana, Bahia, Brazil.

^aPublicado na Systematic Botany, 40(4): 1076, 2015.

1. INTRODUCTION

Pentaphylacaceae (or Ternstroemiaceae) has received wide acceptance as distinct from Theaceae after molecular evidence placed some former genera of this family (e.g. *Cleyera* Thunb., *Eurya* Thunb., and *Ternstroemia* Mutis ex L.f.) not as sisters to the remaining Theaceae, but as more closely related to representatives of Symplocaceae, albeit with low support (Prince and Parks 2001). In its current circumscription, Pentaphylacaceae comprises 12 genera that are mostly found in tropical Asia, the West Pacific, and the Americas, with few genera and species in Africa and subtropical areas (Mabberley 2008; Stevens 2001 onwards).

With 60 currently recognized species (including that described here), *Freziera* Willd. is the second largest genus among the Neotropical Pentaphylacaceae in terms of the number of accepted species (Weitzman et al. 2004).

However, the diversity of *Freziera* may be even higher, because several species have yet to be formally described (Weitzman 1999). Freziera belongs to the tribe Freziereae, with nine genera, of which three are found in the Neotropics: Cleyera, Freziera, and Symplococarpon Airy Shaw (Mabberley 2008). Freziera can be distinguished from the other two genera by its unique combination of distichous leaves with their margins usually serrate, crenate, nearly entire or sinuous; unisexual flowers with an urceolate corolla; uniseriate stamens with the styles shorter than the ovary and a 3-5-lobed stigma (Every 2009; Weitzman et al. 2004). In terms of the ovary, the [2] 3-5 [6)]-locular Cleyera and Symplococarpon also differ from the 2-3-locular Freziera (Weitzman et al. 2004). Species of Freziera range from small compact shrubs ca. 1 m tall (F. minima A. L. Weitzman, from Ecuador) to large trees up to ca. 30 m tall (F. grisebachii Krug & Urb.), and are usually found in montane forests from 1,000-3,000 m above sea level; a few species can also grow at lower elevations, such as F. grisebachii, which is found in both montane and lowland (up to 450 m) rainforests in the West Indies and Costa Rica respectively. Most species of *Freziera* are distributed in southern Mexico (two species), the West Indies (3 spp.), Central America (7 spp.), and South America (52 spp.), especially along the Andes from Colombia to Bolivia (Kobuski 1941; Weitzman 1987a). In Brazil there is a single species of the genus, F. carinata A. L. Weitzman, which is found in montane forests at Neblina Peak (Amazonas state) and the neighboring Venezuelan Guayana region (Weitzman 1987b; Sobral and Bittrich 2014), at about (950-)1,450-2,600 m. Freziera roraimensis Tul., endemic to the same region (Mount Roraima), is likely to be found in Brazil, but has not yet been collected in that country.

Botanical exploration and molecular phylogenetic studies in the Brazilian Atlantic Forest plant taxa in the past two decades have revealed large numbers of taxonomic novelties, including several endemic genera (e.g. Kallunki 1998; Delprete 1999; Berry et al. 2005; Goldenberg and Amorim 2006; Fiaschi and Groppo 2008; Acevedo-Rodríguez 2012; Cheek and Simão-Bianchini 2013; Ferreira et al. 2013; Viana et al. 2013). Likewise, many taxa previously unknown to the Atlantic Forest have been recorded there in recent years, such as Clistax Mart. (Acanthaceae, Profice and Leitman 2013), Hook. f. 2002). Graffenrieda DC. Crepidospermum (Burseraceae, Daly (Melastomataceae, Amorim et al. 2009), Kerianthera J. H. Kirkbr. and Notopleura (Benth. & Hook. f.) Bremek. (Rubiaceae, Oliveira et al. 2011; Taylor 2003), Spiranthera A. St.-Hil. (Rutaceae, Pirani 2010), and *Tapura* Aubl. (Dichapetalaceae, Prance 1997). Adding to this list, a new species of *Freziera* that constitutes the first record of this genus for the Brazilian Atlantic Forest is described and illustrated here and its geographic distribution presented. We also compare the morphology of the new species with that of the similar *F. grisebachii*, and provide data on its ecological preferences and phenology. A short discussion on the disjunct distribution of Freziera in northern South America and along the Brazilian Atlantic coast is also provided.

2. MATERIALS AND METHODS

The descriptions and illustrations of the new species presented here are based on field collections and the examination of herbarium specimens. Information concerning plant heights, habits, trichome colors, leaf blade surfaces, sepals, petals, fruits and other informative features were noted while examining fresh material in the field or was transcribed from the collection labels of herbarium specimens. Leaf venation pattern follows Ellis et al. (2009). Descriptions, morphological illustrations, and maps are based only on plant material collected in the field and specimens housed in the CEPEC, HURB and VIES herbaria. The maps were generated with Arcgis software (ESRI 2010), and the geographical coordinates were obtained from field GPS determinations.

3. TAXONOMIC TREATMENT

Freziera atlantica Zorzanelli & Amorim, sp. nov.—TYPE: BRAZIL. Bahia: Mun. Ibirapitanga, Área de Proteção Ambiental do Pratigi, Serra do Papuã Reserve, 13°53′ 27″ S, 39°27′ 33″ W, 500–550 m, 16 Jul 2014 (fl ♀, fr), A. M. Amorim, L. H. Daneu & L. C. J. Gomes 8688 (holotype: CEPEC!; isotypes: FLOR!, GH!, HUESC!, HUEFS!, HURB!, MBM!, NY!, P!, RB!, UFRN!, VIES!).

Freziera atlantica differs from *F. grisebachii* Krug & Urb. by the minutely serrate and villous (vs. serrate and glabrous) margin of the leaf blades, the midrib densely villous (vs. glabrous) adaxially, and villous to sparsely glabrescent (vs. tomentose) with age abaxially, by the presence of 18–22 (vs. 15–20) pairs of lateral veins on the leaf blades, and the petals 6–7 (vs. 4–6.3) mm long.

Dioecious trees 15-25 m tall. Trunk 20-30 cm diam. At breast height; branches terete, dark gray-brown, the bark striate and splitting longitudinally with age, glabrous; old twigs terete, sometimes flattened, bark gray-brown, the indumentum villous, with trichomes golden to brownish, glabrescent with age, lenticels scattered, narrowly elliptic; terminal bud conduplicate-involute, densely villous; colleters absent. Leaves with petiole (1.3–)1.8–2 cm long, adaxially canaliculate, the margins involute and the two sides touching, densely villous to glabrescent; blade $(9-)12-17.5(-18.5) \times (3.5-)5.5-8$ cm, lanceolate, oblong-lanceolate, or rarely slightly ovate, subcoriaceous; apex acute or short-acuminate, terminating in a rounded, brownish to black seta; base slightly revolute, nearly unequal, rounded or obtuse; margin minutely serrate, especially near the base, with rounded brownish to black setae, villous; venation pinnate, midrib flat adaxially, prominent abaxially; costal secondary veins 18-22 per side, flat adaxially, prominent abaxially, framework festooned brochidodromous, spacing regular, variation of angle to midvein smoothly increasing proximally, attachment to midvein excurrent; intersecondary veins usually one per intercostal area, course parallel to major secondaries, length more or less than 50% of subjacent secondary, distal course reticulating; intercostal tertiary vein fabric reticulate irregular, exterior tertiary course looped, 2-5 mm from leaf blade margin; quaternary vein fabric reticulate irregular, hardly seen due to trichomes, areolation not seen; abaxial surface densely golden villous, non-papillate, sparsely glabrescent with age; adaxial surface dark green, sparsely villous; apex acute or

shortacuminate, terminating in a rounded, brownish to black seta; adaxial surface dark green, villous; abaxial surface golden, non-papillate, densely villous, sparsely glabrescent with age; venation brochidodromous, midrib flat adaxially, prominent abaxially, densely villous adaxially, secondary veins 24-30 per side, flat adaxially, prominent abaxially, looping 2-5 mm from leaf blade margin. Staminate inflorescences not seen. Pistillate inflorescence axis with 1-5(-7) flowers; bracts persistent, deltate, 3-4.2 mm long, densely villous abaxially, with golden trichomes, apex acute, margin entire. Pistillate flowers 5- merous, $7-8 \times ca$. 4 mm, pedicels terete 5-7(-9) mm long, densely villous abaxially, with golden trichomes; bracteoles 2, opposite, ovate, near equal, 2.5–3 x 1.7-2 mm, villous abaxially, with golden trichomes, apex acute, margin entire, without setae; sepals unequal, abaxial surface villous, adaxial surface nearly glabrous; the two outer sepals ovate, 3-3.2 x 2.8-3 mm, indices acute, margins entire, the three inner sepals broadly rounded, ca. 3 x 2.7 mm, apices rounded, margins erose; corolla urceolate, petals white, $6-7 \times 3-4$ mm, slightly connate basally, unequal, the two outer petals broadly rounded, the three inner petals ovate to elliptic, apex rounded, apically recurved at anthesis, margin entire, membranaceous, glabrous on both sides; staminodes 22, uniseriate, free but basally adnate to base of petals, linear, flat, equal, 1.2–1.5 mm long; pistil ca. 4.3×1.8 mm, 3-carpellate, pyriform, stigmatic lobes 3, ca. 0.6 mm long, erect, ovary glabrous, 3-locular, pluriovulate. Fruits immature green, ca. 8 x 8 mm, maturing vinaceous, 8–9 mm long, polyspermic, seeds reniform (Figures 1, 2).

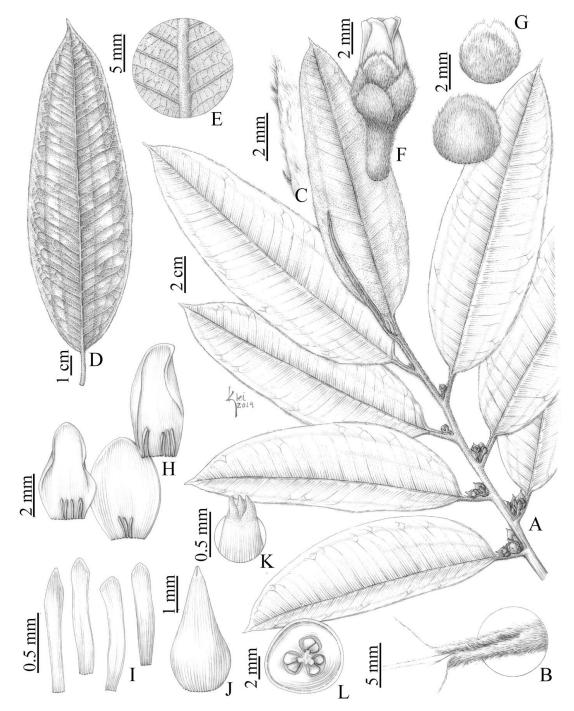


Figure 1. Freziera atlantica. A. Flowering and fruiting branch, adaxial view. B. Detail of petiole, adaxial view. C. Detail of leaf margin, showing two teeth. D. Leaf, abaxial surface, showing venation markings. E. Detail of abaxial surface of the leaf blade, showing the midrib and reticulum. F. Pistillate flower, lateral view. G. Sepals, abaxial surface (inner sepal above, outer one below). H. Petals, adaxial surface showing the staminodes. I. Staminodes. J. Pistil, lateral view. K. Detail of stigmatic lobes. L. Ovary, transverse section. (based on A. M. Amorim et al. 8688)

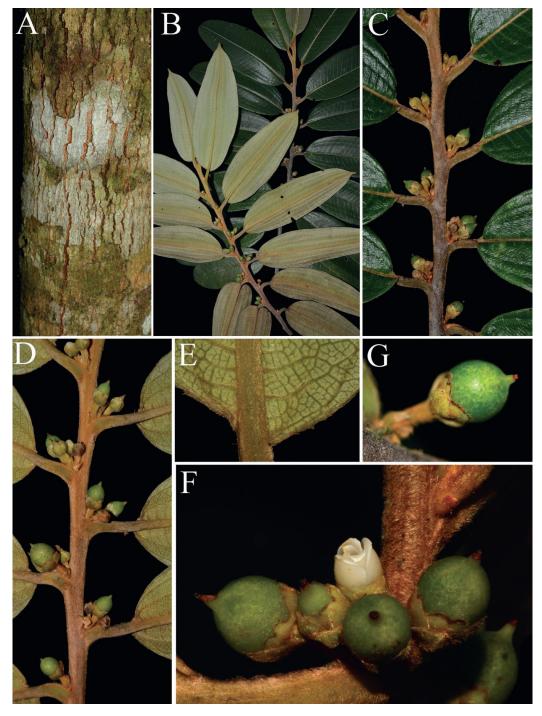


Figure 2. Freziera atlantica. A. Trunk. B. Flowering branch in abaxial (left) and adaxial (right) views. C. Fertile branch, adaxial view. D. Fertile branch, abaxial view. E. Detail of the base of the leaf blade, abaxial side. F. Detail of an inflorescence, showing a flower at anthesis and fruits. G. Immature fruit, lateral view. (based on A. M. Amorim et al. 8688)

Additional Specimens Examined—BRAZIL. Bahia: Mun. Ibirapitanga, Área de Proteção Ambiental do Pratigi, Reserva Serra do Papuã, 13°55′14″S, 39°28′12″W, 500–550 m, Parcela 25, árvore 1499, 13 Jan 2013 (fl ♀), V. V. Victor-Jr without number (HURB). Espírito Santo: Mun. Iúna, Floresta do Senhor Aristides, Transecto 2, planta 8,

20°21′46″S, 41°28′16″W, ca. 1422 m, 20 Jan 2012 (fr), J. P. F. Zorzanelli 308 (CEPEC, FLOR, UFRN, VIES); próximo à trilha que vai para o mirante, 7 Jul 2014 (fl ♀, fr), J. P. F. Zorzanelli 1037 (VIES).

Distribution and Habitat—*Freziera atlantica* appears to be endemic to the Atlantic Forest domain (Fig. 3). In the state of Bahia, it inhabits tall forests in advanced secondary sites at elevations between 500–550 m. In the state of Espírito Santo, *F. atlantica* occurs in similar habitats, but individuals occur at altitudes between 1,400–1,500 m.

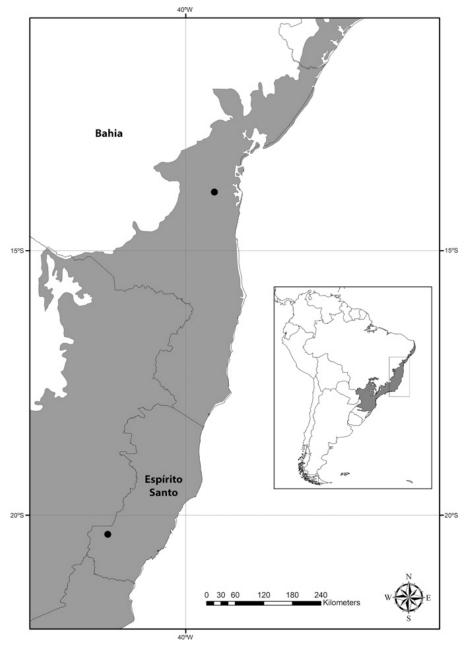


Figure 3. Map of the geographic distribution of *Freziera atlantica* (circles). The gray shading (left) indicates the original extension of the Atlantic Forest in the states of Bahia and Espírito Santo, Brazil.

Conservation—According to IUCN (2001) criteria, *Freziera atlantica* should be characterized as Vulnerable – VU [B2a, b (ii, iii, iv)] as we predict that further fieldwork in the Atlantic Forest will reveal more areas of occurrence. However, when we apply Geocat System (http://geocat.kew.org) the occurrence area (AOO) in 8,000 km2 indicates that the species should be categorized as Critically Endangered – CR. In Bahia, *F. atlantica* is currently known from just one population (although with numerous individuals) in the Serra do Papuã Reserve, a private area that is protected but whose natural forests are extremely endangered by fragmentation. Unlike in Bahia, the populations of *F. atlantica* in Espírito Santo do not occur in a protected area; its area of occurrence in the municipality of Iúna has experienced regular burning due to different causes. All of the specimens of the new species described here were collected within the last three years.

Phenology—Plants were found in flower (\mathcal{P}) and fruit in January and July.

Etymology—The specific epithet refers to its occurrence in the Brazilian Atlantic coastal rainforest.

Taxonomy—In addition to the distinctive characters listed in the diagnosis, *Freziera atlantica* differs from *F. grisebachii* by its height (15–25 m vs. 10–15 m tall respectively), blade width ([3.5–] 5.5–8 vs. 4–5.5 cm), blade base (revolute vs. non-revolute), bract length (3–4.2 vs. 1.1–2.8 mm), bracteole width (1.7–2 vs. [1.8–] 2.4–3.7 mm), and pedicel length (5–7[–9] vs. [3.1–] 3.4–4.5 [–8.7] mm).

4. COMMENTS ON THE GEOGRAPHIC DISTRIBUTION

Among several disjunct patterns at generic rank in the Brazilian flora, Fiaschi and Pirani (2009) highlighted three typical of taxa from rainforests or open montane habitats that are separated by corridors of seasonally dry forests or savanna (Prado and Gibbs 1993, Prado 2000): (1) the Amazon/Atlantic forests, (2) Eastern Brazil/Guiana Shield, and (3) Southern Brazil/Andes. The Amazon/Atlantic forest disjunction pattern is typical of mostly lowland taxa, such as Pachystachys Nees (Acanthaceae), Anthodiscus G. Mey. (Caryocaraceae), Discocarpus Klotzsch (Phyllanthaceae), Lecythis Loefl. (Lecythidaceae), Roucheria Planch. (Linaceae), and Adelobotrys DC. (Melastomataceae). In the Atlantic forest, these taxa are usually restricted to areas from northern Espírito Santo to Pernambuco state, not reaching montane areas. The Eastern Brazil/Guiana Shield disjunction pattern is observed, for example, in Schefflera J. R.

Forst. & G. Forst. group Crepinella (Araliaceae) and Bonnetia Schreb. (Bonnetiaceae), and it is particularly well known among taxa from the Espinhaço Range in the states of Minas Gerais and Bahia (Giulietti and Pirani 1988). Disjunct Southern Brazil/ Andean taxa include, among many other examples, Gunnera L. (Gunneraceae) and Escallonia Mutis ex L. f. (Escalloniaceae), which are typically found in the southern states of eastern Brazil, from Paraná to Rio Grande do Sul. On the other hand, genera such as Dendrophorbium (Cuatrec.) C. Jeffrey and Graphistylis B. Nord. (Asteraceae), Fuchsia L. (Onagraceae), and *Drimys J. R. Forst. & G. Forst.* (Winteraceae), with northern occurrence extensions along the Brazilian Atlantic forests are restricted to higher elevations and/or more open habitats. None of these above-mentioned disjunct patterns are congruent with the distribution displayed by Freziera, whose species are predominantly found in the tropical Andes (with northern extensions into Central America), the West Indies, and the mid-elevations of the Brazilian Atlantic Forest in the states of Espírito Santo and Bahia. This distribution pattern is somewhat similar to that observed in Oreopanax Decne. & Planch. (Araliaceae) and Hedyosmum Sw. (Chloranthaceae), but these two taxa tend to have species that are more widespread in the Atlantic Forest, with most records from southern and southeastern Brazil. The distribution of Conostegia D. Don (Melastomataceae), somehow matches the Freziera disjunction most closely: it is known only from a single species in the Brazilian Atlantic Forest of Bahia [C. icosandra (Sw. ex Wikstr.) Urb.], whereas most of the species richness in the genus is centered in Central America (Kriebel 2014).

The discovery of *Freziera atlantica* and the disjunction pattern observed in *Freziera* underscores the need for further floristic studies in the Brazilian Atlantic Forests in the states of Bahia and Espírito Santo. In addition to the remarkable species diversity (Martini et al. 2007) and endemism levels (Thomas et al. 1998, Werneck et al. 2011), the new taxa and/ or distribution records likely awaiting discovery in these forests may reveal further examples of this so far poorly known biogeographic pattern.

5. ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank Klei Sousa for the drawings, Lucas C. Marinho (UEFS) and Rafael F. Almeida (UEFS) for the graphical support in the figures, and Benoît Loeuille (USP) and Gustavo Heiden (UFPel) for providing valuable information on the biogeography of the Asteraceae. AMA received financial support from CNPq

(Produtividade em Pesquisa grant # 306992/2012–4, Edital PPBIO grant # 457483/2012-1, and Edital Universal grant # 486079/2013–9). We also thank the staff of the Organização de Conservação de Terras (OCT) for their logistical support in the Área de Proteção Ambiental do Pratigi (Serra do Papuã Reserve), and Josival Santos Souza (UFRB) and his project team for providing the first specimen of Freziera atlantica from Bahia State.

6. LITERATURE CITED

ACEVEDO-RODRÍGUEZ, P. 2012. *Alatococcus*, a new genus of Sapindaceae from Espirito Santo, Brazil. **PhytoKeys**, v.10, p.1–5, 2012.

AMORIM, A.M.; JARDIM, J.G.; LOPES, M.M.; FIASCHI, P.; BORGES, R.A.X.; PERDIZ, R.O.; THOMAS, W.W. Angiospermas em remanescentes de floresta montana no sul da Bahia, Brasil. **Biota Neotropica**, v.9, p.313–348, 2009.

BERRY, P.E.; CORDEIRO, I.; WIEDENHOEFT, A. C.; VITORINO-CRUZ, M. A.; LIMA, L.R.D. Brasiliocroton, a new crotonoid genus of Euphorbiaceae s.s. from eastern Brazil. **Systematic Botany**, v.30, p.357–365, 2005.

CHEEK, M.; SIMÃO-BIANCHINI, R. *Keraunea* gen. nov. (Convolvulaceae) from Brazil. **Nordic Journal of Botany**, v.31, p.453–457, 2013.

DALY, D.C. *Crepidospermum atlanticum* sp. nov., a genus new to the Atlantic forest complex of eastern Brazil. Studies in neotropical Burseraceae X. **Kew Bulletin**, v.57, p.471–477, 2002.

DELPRETE, P.G. *Riodocea* (Rubiaceae, Gardenieae), a new genus from the Brazilian Atlantic forest. **Brittonia**, v.51, p.15–23, 1999.

ELLIS, B.; DALY, D.; HICHEY, L.J.; JOHNSON, K.R.; MITCHELL, J.; WILF, P.; WING, S.L. **Manual of leaf architecture**. New York: Cornell University Press, 2009.

ESRI. Environmental Systems Research Institute. **Arcgis, version 9.3.1**. Redlands, California: Environmental Systems Research Institute, 2010.

EVERY, J.L.R. Neotropical Pentaphylacaceae. In MILLIKEN, W.; KLITGÅRD, B.; BARACAT, A. (2009 onwards), **Neotropikey**: Interactive key and information resources for flowering plants of the Neotropics, 2009. http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Pentaphylacaceae.htm.

FERREIRA, F.M.; BERG, C.V.D.; HOLLOWELL, V.C.; OLIVEIRA, R.P.. *Parianella* (Poaceae, Bambusoideae): Morphological and biogeographical information reveals a new genus of herbaceous bamboos from Brazil. **Phytotaxa**, v.77, p.27–32, 2013.

- FIASCHI, P.; GROPPO, M. *Kuhlmanniodendron* Fiaschi & Groppo, a new eastern Brazilian genus of Achariaceae sensu lato segregated from Carpotroche Endl. (formerly included in Flacourtiaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.157, p.103–109, 2008.
- FIASCHI, P.; PIRANI J.R. Review of plant biogeographic studies in Brazil. **Journal of Systematics and Evolution** 47: 477–496, 2009.
- GIULIETTI, A.M.; PIRANI, J.R. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil. In: VANZOLINI, P.E.; Heyer, W.R. (Eds.). **Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1988. Pp. 39–69
- GOLDENBERG, R.; AMORIM, A.M. *Physeterostemon* (Melastomataceae): a new genus and two new species from the Bahian Atlantic Forest, Brazil. **Taxon**, v.55, p.965–972, 2006.
- IUCN. **IUCN red list categories and criteria**: Version 3.1. Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN Species Survival Commission, 2001.
- KALLUNKI, J.A. *Andreadoxa flava* (Rutaceae, Cuspariinae): a new genus and species from Bahia, Brazil. **Brittonia**, v.50, p.59–62, 1998.
- KOBUSKI, C.E. Studies in the Theaceae VIII: a synopsis of the genus *Freziera*. **Journal of the Arnold Arboretum**, v.22, p.457–496, 1941.
- KRIEBEL, R. Phylogeny, taxonomy and morphological evolution in *Conostegia* (Melastomataceae: Miconieae). Ph.D. dissertation, New York: The City University of New York, 2014.
- MABBERLEY, D.J. **Mabberley's Plant-Book**: a portable dictionary of plants, their classification and uses. Third edition. Cambridge, U.K.: Cambridge University Press, 2008.
- MARTINI, A.M.Z.; FIASCHI, P.; AMORIM, A.M.; PAIXÃO, J.L. A hot-point within a hot-spot: a high diversity site in Brazil's Atlantic Forest. **Biodiversity and Conservation**, v.16, p.3111–3128, 2007.
- OLIVEIRA, C.T.; GIACOMIN, L.L.; ZAPPI, D.C. *Kerianthera longiflora* (Rubiaceae), a remarkable new species from eastern Brazil, with some observations on *K. preclara*. **Kew Bulletin**, v.66, p.1–6, 2011.
- PIRANI, J.R. *Spiranthera atlantica* (Rutaceae, Galipeae), a new species and the first record of the genus for the Brazilian Atlantic Forest. **Novon**, v.20, p.203–206, 2010.
- POOL, A. Theaceae. In: STEVENS, W.D.; ULLOA, C.; POOL, A.; MONTIEL, O.M. (Eds.). **Flora de Nicaragua**. V.3. St. Louis: Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden, 2001. Pp. 2443–2448

- PRADO, D.E. Seasonally dry forests of tropical South America: from forgotten ecosystems to a new phytogeographical unit. **Edinburgh Journal of Botany**, v.57, p.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**, v.80, p.902–927, 1993.
- PRANCE, G.T. *Tapura* (Dichapetalaceae) from the Mata Atlântica of Brazil. **Biollandia Edición Especial**, v.6, p.491–496, 1997.
- PRINCE, L.M.; PARKS, C.R. Phylogenetic relationships of Theaceae inferred from chloroplast DNA sequence data. **American Journal of Botany**, v.88, p.2309–2320, 2001.
- PROFICE, S.; LEITMAN, P. *Clistax bahiensis* (Acanthaceae), a new epiphytic species from Bahia, Brazil. **Phytotaxa**, v.132, p.47–52, 2013.
- SOBRAL, M.; BITTRICH, V. **Pentaphylacaceae**. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2014. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB12574. (Accessed 30 September 2014).
- STEVENS, P.F.. **Angiosperm Phylogeny Website. Version 13**. (2001 onwards) Sep 2013 [and more or less continuously updated since]."http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/ (Accessed 04 October 2014).
- TAYLOR, C.M. *Rubiacearum americanarum magna hama pars* XV. New species and two new combinations in *Notopleura* (Psychotrieae) from Central and South America. **Novon**, v.13, p.228–260, 2003.
- THOMAS, W.W.; CARVALHO, A.M.V.; AMORIM, A.M.; GARRISON, J.; ARBELÁEZ, A.L. Plant endemism in two forests in Southern Bahia, Brazil. **Biodiversity and Conservation**, v.7, p.311–322, 1998.
- VIANA, P.L.; FILGUEIRAS, T.S.; CLARK, L.G. *Cambajuva* (Poaceae: Bambusoideae: Bambuseae: Arthrostylidiinae), a new woody bamboo genus from southern Brazil. **Systematic Botany**, v.38, p.97–103, 2013.
- WEITZMAN, A.L. **Systematics of** *Freziera* **Willd. (Theaceae)**. Ph.D. Thesis, Cambridge, Massachusetts: Harvard University, 1987a.
- WEITZMAN, A.L. Taxonomic studies in *Freziera* (Theaceae), with notes on reproductive biology. **Journal of the Arnold Arboretum**, v.68, p.323–334, 1987b.
- WEITZMAN, A.L. Theaceae. In: JØRGENSEN, P.M.; LEÓN-YÁNEZ, S. (Eds.). Catalogue of the vascular plants of Ecuador. V. 75. St. Louis: Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden, 1999. Pp. 923–924

WEITZMAN, A.L.; DRESSLER, S.; STEVENS, P.F. Ternstroemiaceae. In: KUBITZKI, K. (Ed.). **Families and genera of vascular plants**. V.6. Berlin: Springer-Verlag, 2004. Pp. 450–460

WERNECK, M.S.; SOBRAL, M.E.G.; ROCHA, C.T.V.; LANDAU, E.C.; STEHMANN, J.R. Distribution and endemism of angiosperms in the Atlantic Forest. **Natureza & Conservação**, v.9, p.188–193, 2011.

CAPÍTULO 2 – NOTAS SOBRE A TAXONOMIA DE *Freziera atlantica* Zorzanelli & Amorim (Pentaphylacaceae): REFINANDO A DESCRIÇÃO DA ESPÉCIE^a

Resumo: Foi proposta a complementação da descrição de *Freziera atlantica* Zorzanelli & Amorim com base em materiais obtidos recentemente de plantas bissexuais, visando estabelecer a estrutura sexual da espécie. Foram fornecidas informações adicionais sobre a biologia da espécie e uma ilustração botânica detalhada do material. Essas informações biológicas de *F. atlantica* complementam também o que existe de disponível para o gênero até o momento e servem como subsídio para estudos da biologia reprodutiva mais específicos em *Freziera*.

Palavras-chave: dioicia, ginodiocia, Ternstroemiaceae, Weitzman.

^aManuscrito a ser submetido ao Kew Bulletin.

1. INTRODUÇÃO

Pentaphylacaceae é uma família de Angiospermas que foi considerada, por alguns anos, um clado situado em Ternstroemiaceae (ANDERBERG et al., 2002; WEITZMAN et al., 2004). Entretanto, estudos posteriores reclassificaram esse clado em duas famílias distintas: Sladeniaceae e Pentaphylacaceae (THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP, 2009). Tsou et al. (2016), traçando uma abordagem das relações dentro de Pentaphylacaceae, sugeriram, entretanto, a fusão desta família com Sladeniaceae, com base em um recente estudo filogenético. Essa circunscrição, no entanto, ainda não é amplamente aceita. Desta forma, Pentaphylacaceae, como conhecida atualmente, inclui 12 gêneros e 330 espécies distribuídas nos trópicos e subtrópicos. Na região neotropical, Pentaphylacaceae é gêneros (Cleyera, representada por quatro Freziera, Symplococarpon e Ternstroemia), dos quais apenas Ternstroemia e Freziera foram reportadas ao Brasil por Sobral e Bittrich (2015).

Freziera Willd. (1799: 1179) é um gênero neotropical com flores estruturalmente ginodióicas e funcionalmente dióicas constituído de cerca 65 espécies (SANTAMARÍA-AGUILAR et al., 2018), das quais apenas Freziera chrysophylla Bonpl. (1808: 31) é conhecida por ter apenas indivíduos bissexuais em suas populações (WEITZMAN, 1987a). O gênero está distribuído desde a América Central à América do Sul, compreendendo México, Bolívia, Venezuela e Antilhas, com centro de diversidade nas montanhas andinas (WEITZMAN, 1987a; SANTAMARÍA-AGUILAR et al., 2014). Atualmente, Santamaría-Aguilar e Monro (2019) descreveram 11 novas espécies de Freziera para a América do Sul, ampliando o número de representantes no gênero.

O primeiro registro para o gênero no Brasil, *Freziera carinata* A.L. Weitzman, foi catalogado para o estado do Amazonas, em região limítrofe à Venezuela (SOBRAL; BITTRICH, 2015). O segundo registro para o gênero no Brasil foi descoberto também no ano de 2015, e se tratava de uma nova espécie para o gênero *Freziera*, endêmica da Floresta Atlântica. Esse táxon foi nomeado como *Freziera atlantica* Zorzan. & Amorim (ZORZANELLI et al., 2015), sendo atualmente conhecido por apenas duas populações, uma no estado da Bahia (Serra da Papuã – SP) e outra no Espírito Santo (Serra do Valentim – SV).

O tipo de sistema sexual foi uma das questões que permaneceram em aberto no protólogo de *Freziera atlantica*. Todos os materiais disponíveis até aquela data apresentavam flores estritamente pistiladas. Portanto, *Freziera atlantica* poderia se tratar de uma espécie dioica (i.e., se outro morfo sexual apresentasse flores exclusivamente estaminadas), ginodioica (i.e., se outro morfo sexual apresentasse flores bissexuais), ou mesmo poderia se tratar de uma espécie polígama. Qual seria o sistema sexual da espécie?

Considerando a questão supracitada, este trabalho visa aprofundar o conhecimento sobre a morfologia de *Freziera atlantica*. Primeiro, é descrita a morfologia das flores bissexuais da espécie, incluindo aspectos complementares sobre a biologia de *F. atlantica*.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletados materiais botânicos reprodutivos em uma população de *F. atlantica* na Serra do Valentim, ES, em expedições realizadas entre os anos de 2016 e 2018, onde foi iniciado um projeto de pesquisa científica para investigar aspectos biológicos da espécie. Foi revista também a coleção de *F. atlantica* dos herbários VIES e CAP (acrônimos de acordo com THIERS, 2018), onde os materiais de indivíduos bissexuais estão tombados.

Para determinar o sistema sexual de *F. atlantica* foi acessado o conjunto de estaminódios das flores pistiladas para detectar se existe produção de grãos de pólen por essas estruturas. Para tanto, foram coletados 10 botões florais em préantese de dois indivíduos pistilados provenientes na SV. Esses materiais foram fixados a campo em uma solução de carnoy (3 Metanol : 1 Ácido Acético), sendo conduzidos ao laboratório para realização de três trocas sucessivas de fixador em intervalos de 10 min. Ao final, os materiais foram acondicionados em frascos do tipo Falcon e conduzidos ao freezer à temperatura de -20°C para o teste de coloração posterior.

Todos os estaminódios foram separados dos verticilos florais e banhados em HCl 5N por 10 min sobre lâmina. O excesso da solução foi posteriormente retirado com auxílio de papel filtro, sendo o material imediatamente corado em solução de Alexander (ALEXANDER, 1980) por 10 min, onde os estaminódios foram esmagados com auxílio de agulha. A solução foi recoberta por lamínula e conduzida

a um microscópio óptico Nikon com lente objetiva de 40x para análise por meio da técnica de varredura ao longo de toda lâmina.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Freziera atlantica Zorzan. & Amorim (2016: 1075). Tipo: Brasil, Bahia, Mun. Ibirapitanga, Área de Proteção Ambiental do Pratigi, Reserva Serra do Papuã, 13°53′27″S, 39°27′33″W, alt. 500 – 550m, 16 July 2014 (fl. ♀, fr.), Amorim, Daneu & Gomes 8688 (holótipo: CEPEC!; isótipos: FLOR!, GH!, HUESC!, HUEFS!, HURB!, MBM!, NY!, P!, RB!, UFRN!, VIES!).

FLORES BISSEXUAIS (Figura 1). Com 16 ou 18 ou 20 ou 22 ou 24 estames, livres entre si e basalmente adnatos à corola, uniformes, filetes planos, retos, cerca de 0,8-1,5 mm de comprimento, anteras cerca de 1-1,3 x 0,3-0,4 mm, apículos ovados,, ápice arredondado. Gineceu piriforme 3-4,9 x 1,2-1,9 mm, 3-carpelado, com lóculos cerca de 0,4-1 mm de comprimento, lobos estigmáticos eretos, cerca de 0,2-0,4 mm de comprimento.

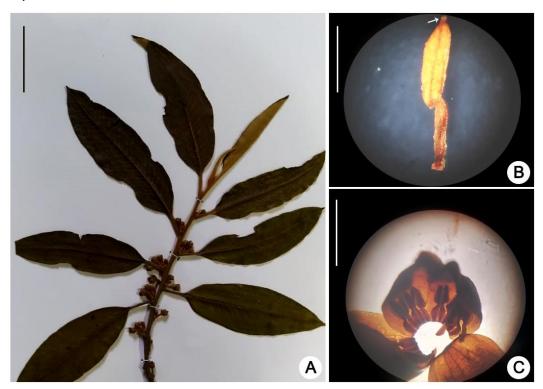


Figura 4. Amostra do morfotipo bissexual de *F. atlantica*, onde: A) amostra herborizada contendo botões e flores – escala: 5 cm; B) estame ereto com filete plano, apículo da antera representado pela seta – escala: 1.2 mm; C) estames adnatos à corola com distribuição unisseriada – escala: 5 mm.

ESPÉCIMES EXAMINADOS. BRASIL. Espírito Santo: Iúna, Serra do Valentim, floresta do Senhor Aristides Silveira, próximo ao mirante, 20°21'46"S 41°28'14"W, 1444 m, 14 Dec. 2017 fl., *J.P.F. Zorzanelli* 1811 (CAP); 20°21'42"S 41°28'15"W, 1445 m, 1 Aug. 2014 fl., *J.P.F. Zorzanelli* 1064 (VIES, CAP); próximo ao transecto 2, 20°21'48"1S 41°28'16"W, 1420 m, 8 Nov. 2017 fl., *J.P.F. Zorzanelli* 1812 (CAP); 20°21'48"S 41°28'16"W, 1424 m, 8 Nov. 2017 fl., *J.P.F. Zorzanelli* 1813 (CAP); 20°21'48"S 41°28'17"W, 1423 m, 8 Nov. 2017 fl., *J.P.F. Zorzanelli* 1814 (CAP); 20°21'47"S 41°28'16"W, 1427 m, 1 April 2017 fl., *J.P.F. Zorzanelli* 1648 (CAP); após o mirante da floresta do Senhor Aristides Silveira, 20°21'39"S 41°28'12"W, 1420 m, 10 Feb. 2018 fl., *J.P.F. Zorzanelli* 1809 (CAP); 20°21'38"S 41°28'12"W, 1415 m, 10 Feb. 2018 fl., fr., *J.P.F. Zorzanelli* 1810 (CAP).

TAXONOMIA. Os estames são unisseriados, livres entre si, mas basalmente adnatos à corola. Filetes planos e eretos. As anteras estão inseridas basalmente nos filetes, apresentando deiscência transversal. O pistilo é funcional, com ovário piriforme, estigma trífido com lobos estigmáticos eretos e trilocular com óvulos em placentação axial.

A espécie mais próxima morfologicamente, *F. grisebachii*, como mencionada por Weitzman (1987b), é uma espécie muito variável em alguns caracteres, entretanto o número de estames é relativamente maior quando comparado a *F. atlantica*. Comprimento e largura das anteras também diferem entre as espécies, sendo essas estruturas ligeiramente menores em *F. atlantica* (Tabela 1).

Tabela 1. Comparação entre caracteres das flores bissexuais de *F. atlantica* e *F. grisebachii*.

Caracteres/espécies	F. atlantica	F. grisebachii
Número de estames	16 ou 18 ou 20 ou 22 ou	22 ou 25 ou 27 ou 28
	24	
Comprimento dos filetes	0.8 – 1.5 mm	0.5 – 1.8 mm
Dimensão das anteras	1 – 1.3 x 0.3 – 0.4 mm	1.5 – 2 x 0.5 – 0.7 mm
Dimensão do gineceu	3 – 4.9 x 1.2 – 1.9 mm	3.3 – 5.3 x 1.7 – 2.4 mm
Comprimento dos lobos	0.2 – 0.4 mm	0.1 – 0.4 mm
estigmáticos		
Comprimento dos lóculos	0.4 – 1 mm	1.3 – 2 mm
do ovário		

SISTEMA SEXUAL. A análise de varredura mostrou que os estaminódios de *F. atlantica* não produzem grãos de pólen ou estruturas que poderiam qualificar um grão de pólen rudimentar. Internamente, os estaminódios não apresentaram qualquer vestígio de grãos de pólen em formação. Assim, classificamos a espécie como sendo ginodioica, quando indivíduos pistilados e bissexuais coexistem na mesma população (RENNER, 2014).

A literatura disponível reporta as espécies de *Freziera* como sendo ginodioicas e funcionalmente dioicas (e.g. SANTAMARÍA-AGUILAR; ORTIZ, 2016), com apenas uma espécie bissexual conhecida, *Freziera chrysophylla* (WEITZMAN, 1987a). Weitzman (1987a) mencionou que nas plantas com flores estaminadas o gineceu se desprende do verticilo logo após a antese. Entretanto, na população da Serra do Valentim foram avistados indivíduos bissexuais onde os pistilos são funcionais e desenvolvem frutos com muitas sementes. Por outro lado, também foram observados alguns morfotipos bissexuais com flores abortadas. Acreditamos que esses fatos aconteçam em função do sistema de cruzamento da espécie que supomos ser alógamo. A fecundação cruzada seria obrigatória, enquanto autogamia, nas árvores bissexuais, seria incompatível, levando ao aborto da flor após a polinização. A ausência ou, pelo menos, a escassez de função reprodutiva em plantas ginodióicas também foi reportada em alguns trabalhos com ervas e arbustos do gênero *Daphne* – Thymelaeaceae (e.g. ALONSO et al., 2007; SHIBATA et al., 2018).

4. AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao incentivo prestado pela comunidade da Serra do Valentim na realização dos trabalhos de pesquisa. O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordernação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

5. REFERÊNCIAS

ALEXANDER, M.P. A versatile stain for pollen fungi, yeast and bacteria. **Stain Technology**, v.55, n.1, p.13-8, 1980.

- ALONSO, C.; MUTIKAINEN, P.; HERRERA, C.M. Ecological context of breeding system variation: sex, size and pollination in a (predominantly) gynodioecious shrub. **Annals of Botany**, v.100, p.1547-1556, 2007.
- ANDERBERG, A.A.; RYDIN, C.; KÄLLERSJÖ, M. Phylogenetic relationships in the order Ericales s.l.: analyses of molecular data from five genes from the plastid and Mitochondrial genomes. **American Journal of Botany**, v.89, n.4, p.677- 687, 2002.
- KOBUSKI, C.E. Studies in the Theaceae VIII: a synopsis of the genus *Freziera*. **Journal of the Arnold Arboretum**, v.22, p.457-496, 1941.
- KUBITZKI, K. **The families and genera of vascular plants**. VI. Flowering plants. Dicotyledons. Celastrales, oxalidales, rosales, cornales, ericales. Berlin: Springer, 2004.
- RENNER, S.S. The relative and absolute frequencies of angiosperm sexual systems: dioecy, monoecy, gynodioecy, and an updated online database. **American Journal of Botany**, v.101, n.10, p.1588-1596, 2014.
- SANTAMARÍA-AGUILAR, D.; MONRO, A.K.; JIMÉNEZ-MADRIGAL, Q.; LAGOMARSINO, L.P. Two new species of *Freziera* (Pentaphylacaceae) from Costa Rica. **Harvard Papers in Botany**, v.19, n.2, p.219-225, 2014.
- SANTAMARÍA-AGUILAR, D.; FUENTES, A.F.; LAGOMARSINO, L.P. Three new species of *Freziera* (Pentaphylacaceae, Freziereae) from Bolivia and Peru. **Phytotaxa**, v.349, n.2, p.101-114, 2018.
- SANTAMARÍA-AGUILAR, D.; MONRO, A.K. Compendium of *Freziera* (Pentaphylacaceae) of South America including eleven new species and the typification of 22 names. **Kew Bulletin**, v.74, 14, 2019.
- SHIBATA, A.; KAMEYAMA, Y.; KUDO, G. Restricted female function of hermaphrodites in a gynodioecious shrub, *Daphne jezoensis* (Thymelaeaceae). **Journal of Plant Research**, v.131, p.245-254, 2018.
- SOBRAL, M.E.G.; BITTRICH, V. **Pentaphylacaceae**. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB135637
- THE ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.161, p.105-121, 2009.
- THIERS, B. [continuously updated] **Index Herbariorum**: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium, 2018. http://sweetgum.nybg.org/science/ih/.
- TSOU, C.-H.; LI, L.; VIJAYAN, K. The intra-familial relationships of Pentaphylacaceae s.l. as revealed by DNA sequence analysis. **Biochemical Genetics**, v.54, p.270-282, 2016.

WEITZMAN, A.L. Taxonomic studies in *Freziera* (Theaceae), with notes on reproductive biology. **Journal of the Arnold Arboretum**, v.68, p.323-334, 1987a.

WEITZMAN, A.L. **Systematics of Freziera Willd. (Theaceae)**. Ph.D. Thesis, Cambridge, Massachusetts: Harvard University, 1987b.

WEITZMAN, A.L.; DRESSLER, S.; STEVENS, P.F. Ternstroemiaceae. In: KUBITZKI, L. (Org.). **Flowergin plants. Dicotyledons VI**: Celastrales, Oxalidales, Rosales, Cornales, Ericales. Heidelberg, Berlin: Springer-Verlag, 2004. pp. 450 – 460

ZORZANELLI, J.P.F.; CARRIJO, T.T.; FIASCHI, P.; JARDIM, J.G.; SANTAMARÍA-AGUILAR, D.; AMORIM, A.M. A first record of *Freziera* (Pentaphylacaceae) from the Brazilian Atlantic Forest, with the description of a new species. **Systematic Botany**, v.40, n.4, p.1075-1080, 2015.

CAPÍTULO 3 - BASES PARA CONSERVAÇÃO GENÉTICA DE *Freziera atlantica* Zorzanlli & Amorim, UMA ESPÉCIE LENHOSA ENDÊMICA DO HOTSPOT DA FLORESTA ATLÂNTICA^a

RESUMO: Na era do antropoceno, umas das grandes preocupações mundiais está relacionada aos distúrbios na paisagem, provocando mudanças no clima do planeta e declínio da diversidade genética de populações de plantas. Um grande desafio é estabelecer planos concretos para conservação genética dessas espécies, tendo como elemento-chave o conhecimento de suas variações genéticas. Focados no propósito de contribuir para a conservação de plantas arbóreas e mediar futuramente marcação de árvores matrizes para coleta de sementes, avaliamos a diversidade e a estruturação genética de uma população isolada de *F. atlantica*, espécie endêmica da Floresta Atlântica, com marcadores moleculares ISSR. O DNA genômico total de 44 indivíduos adultos foi extraído e purificado. A partir da genotipagem, foram mensuradas a diversidade, similaridade e estruturação genética populacional. Os resultados indicam baixo polimorfismo entre os indivíduos de F. atlantica (46,6%) estudados, possivelmente como resposta ao isolamento da população e distribuição agregada no local. Entretanto, a diversidade genética pode ser considerada alta (I=0,3950 e H'=0,2513), sendo possivelmente mantida por mecanismo de auto-incompatibilidade como resposta à dioicia. A similaridade genética é baixa e os indivíduos estudados estão estruturados em uma população genética. Nossos resultados são uma primeira abordagem para estruturação e diversidade genética no gênero neotropical Freziera e os primeiros passos para conhecimento dos aspectos biológicos e proposição de estratégias in situ e ex situ para conservação de *F. atlantica*.

Palavras-chave: diversidade genética, Ericales, Freziera, ISSR, Pentaphylacaceae

^aManuscrito a ser submetido a Tree Genetics & Genomes.

1. INTRODUÇÃO

A diversidade genética é fundamental à evolução e sobrevivência das populações de espécies e ecossistemas, mas somente nos últimos anos tem conquistado notoriedade na aplicação de seus dados para conservação das espécies de plantas e motivado proposições de políticas de restauração ecológica de áreas (KAHILAINEN et al., 2014; PEÑAS et al., 2016; AAVIK; HELM, 2017; TORRES-FLOREZ et al., 2018).

Essas tendências emergem dos sérios transtornos provocados pelos distúrbios humanos nas florestas tropicais a nível global, causando perda de habitat e redução da diversidade genética (HADDAD et al., 2015; WILSON et al., 2016), em consequência das limitações ao fluxo gênico e aumento dos efeitos da deriva (BANKS et al., 2013; ELLSTRAND, 2014; MONA et al., 2014; SEXTON et al., 2014). Se os distúrbios são recorrentes e contínuos, então as espécies de plantas estão submetidas a um processo de erosão genética gradativo.

Apesar dessas graves circunstâncias e a necessidade das agendas políticas mundiais priorizarem suas ações na conservação genética de espécies e ecossistemas (POTTER et al., 2017), os cientistas têm estudado os efeitos do isolamento entre populações de plantas (PANNELL; FIELDS, 2014) sob o pretexto de que a fragmentação aumenta a probabilidade de endocruzamentos e reduz a migração e o fluxo gênico (e.g. BLAMBERT et al., 2016; SAMPSON et al., 2016; LITKOWIEC et al., 2018).

Sob uma perspectiva coalescente, Mona et al. (2014) mostraram que as consequências do isolamento seriam drásticas para a diversidade genética apenas muitas gerações após os distúrbios. Considerando que as florestas tropicais já experimentam esses processos há muitos anos – como no continente africano por mais de 100 anos (ALEMAN et al., 2017) e Floresta Atlântica durante mais de 500 de devastação (JOLY et al., 2014) – o ponto crítico para colapso da diversidade genética de várias espécies já está sendo alcançado. Mesmo existindo altos níveis de cruzamento endogâmico, espécies de plantas podem apresentar mecanismos que retardam a perda de diversidade genética, como a auto-incompatibilidade que coíbe a auto-fecundação (e.g. LLAURENS et al., 2008), elevada produção de sementes (e.g. LLORENS et al., 2004) e de pólen (e.g. DAVIES et al., 2015;

MEDINA-MACEDO et al., 2015; FINLAY et al., 2017), dispersão a longa distância (MONA et al. 2014) e sistemas de cruzamento (SAMPSON et al., 2016).

Freziera atlantica Zorzanelli & Amorim é uma espécie da família Pentaphylacaceae descrita recentemente, conhecida por apenas duas populações disjuntas, e considerada ameaçada de extinção (ZORZANELLI et al., 2015). Como a maioria dos representantes do gênero, trata-se de uma espécie estruturalmente ginodióica (WEITZMAN, 1987), embora funcionalmente pareça ser dióica. As flores pistiladas apresentam vários estaminódios não funcionais. Ecologicamente, produz grande quantidade de frutos ao longo do ano formando farto banco de sementes no solo (TEIXEIRA, 2017). Como a espécie foi descrita para a ciência há pouco tempo, aspectos da diversidade genética são desconhecidos.

Informações sobre conservação genética da maioria das espécies conhecidas ainda são escassas frente aos severos avanços das mudanças antrópicas na paisagem e no clima. O conhecimento sólido da diversidade genética trará contribuições significativas às políticas de recuperação e restauração de áreas firmadas em convenções mundiais e, consequentemente, na proteção da biodiversidade. Focados no propósito de contribuir para a conservação de espécies arbóreas e mediar futuramente marcação de árvores matrizes para coleta de sementes, avaliamos a diversidade e a estruturação genética de uma população isolada da espécie endêmica *F. atlantica*.

2. MÉTODOS

2.1. LOCAL DE COLETA E AMOSTRAGEM

Os indivíduos de *F. atlantica* estudados ocorrem na Serra do Valentim, no estado do Espírito Santo. Trata-se de um conjunto de montanhas situado entre os municípios de Iúna, Ibatiba e Muniz Freire, estado do Espírito Santo (Figura 1). Pertencente à região do entorno da Serra do Caparaó, suas florestas apresentam importante diversidade de plantas tendo como principais fatores de ameaça, a extração ilegal do palmito Juçara (*Euterpe edulis* Mart.) e os incêndios florestais recorrentes ao longo dos anos (ZORZANELLI et al., 2017). De acordo com o critério da IUCN, *F. atlantica* foi categorizada como espécie vulnerável (VU) a extinção e, de acordo com a análise da área de ocorrência, foi indicado ser uma espécie na

categoria criticamente em perigo (CR) devido à pequena superfície de abrangência, estimada em 8000 km² (ZORZANELLI et al., 2015).

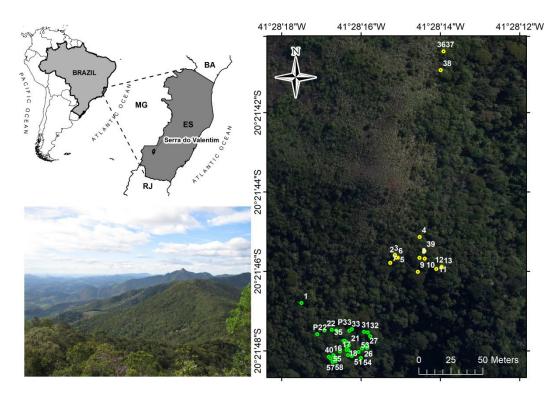


Figura 1. Localização da Serra do Valentim, ES, incluindo população de *Freziera atlantica* (44 indivíduos). Indivíduos em verde estão localizados entre as cotas de 1400 e 1500 m e os indicados em amarelo estão a uma cota de 1500 m.

Os indivíduos estudados de *F. atlantica* estão localizados estritamente no trecho mais elevado de um dos fragmentos de floresta, entre as altitudes de 1.400 e 1.500 m (coordenadas centrais – 20S21'45", 41W28'15"), apresentando distribuição gregária e emergente no dossel, alcançando a altura de até 25 m. Regenerantes não foram observados na população que é composta apenas por indivíduos adultos, muitos destes atualmente em senescência.

Três folhas sadias foram coletadas de 44 indivíduos. Esses materiais foram acondicionados em sílica e levados para o Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular, do Centro de Ciências Exatas e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, sendo mantidos em um freezer a -30°C por 24 horas. Após esse procedimento, o material foi liofilizado por 48 horas para dessecação. Após secas, as folhas foram acondicionadas em uma caixa contendo sílica gel até o início das análises moleculares.

2.2. ANÁLISES MOLECULARES

As folhas secas foram maceradas para obtenção do DNA genômico total, purificado por meio do método de extração proposto por Doyle e Doyle (1990) com modificações propostas pelo IAC. Os 42 *primers* do marcador *Inter Sampe Sequence Repeats* (ISSR) utilizados foram testados utilizando ensaios de *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Os testes iniciais foram realizados em amostras de DNA de seis indivíduos, selecionando os *primers* mais polimórficos e com melhor de perfil de amplificação. Cada reação foi realizada usando um mix com volume final de 20 μl por amostra constituído de tampão 1X (10 mM Tris-HCl (pH 8.5) e 50mM de KCl), 2,5 mM de MgCl₂, 0,25 mM de cada dNTP, 1 unidade de Taq DNA polimerase, 0,2 μM de *primer* e 50 ng de DNA genômico.

As amplificações foram realizadas em termociclador *Applied Biosystems*, modelo Veriti, programado para etapas iniciais de desnaturação a 94°C por 5 min, 35 ciclos constituídos por 45 segundos a 94°C, 45 segundo a 52°C e 90 segundos a 72°C e, uma extensão final de 72°C por 7 minutos. Após as reações, os produtos gerados foram submetidos às corridas eletroforéticas em gel de agarose a 2% por 5 horas, a 100 V. Posteriormente, os géis foram corados com brometo de etídio (0,50 µg/mL) e fotodocumentados para visualização dos fragmentos amplificados, sendo o tamanho molecular de cada fragmento estimado com marcador de DNA (ladder) de 100 pares de base.

2.3. ANÁLISES DE DADOS

Foi gerada uma matriz binária de dados a partir da presença (1) e ausência (0) de bandas visíveis, permitindo realizar previamente uma análise descritiva do número total de bandas (NTB), número de bandas polimórficas (NBP), porcentagem de bandas polimórficas (PBP) por *primer*, variação de tamanho dos fragmentos gerados por pares de bases (TPB) e conteúdo de informação polimórfica (PIC). Além disso, estimamos o número ótimo de *loci* para estudo da diversidade genética utilizando análise de bootstrap, considerando o número ideal aquele que assumisse valor de *stress* <0.05 (KRUSKAL, 1964).

Estimamos os parâmetros da diversidade genética molecular intrapopulacional – índice de diversidade de Shannon (I) (LEWONTIN, 1972), índice de diversidade

Nei (H') (1973), número de alelos observado (Na) e número efetivo de alelos (Ne) (KIMURA e CROW, 1964) – utilizando o programa Popgene 1.32 (YEH et al., 1997).

Comparamos os genótipos das árvores amostradas dentro da população estimando o complemento dos coeficientes de dissimilaridade genética de Jaccard e usamos como método aglomerativo o algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) (MICHENER e SOKAL, 1957) que auxilia na detecção de grupos formados. Estimamos também o coeficiente de correlação cofenética (SOKAL e ROHLF, 1962) para a análise de agrupamento para verificar se não existiram distorções significativas no dendrograma gerado. O ponto de corte (CP) foi estimado de acordo com a equação proposta por Mojena (1977), baseada nos valores de média e desvio-padrão da dissimilaridade genética e considerando o valor do coeficiente K igual a 1,25. Realizamos todas as análises referentes à dissimilaridade genética no programa Genes (CRUZ, 2008).

Realizamos 20 corridas para cada valor de K, para as quais o número de grupos estabelecidos (K) foi de K = 1 a K = 4, com 1000.000 interações de Monte Carlo, via Cadeias de Markov (MCMC) com um descarte inicial (burn-in) de 250.000 interações. O número de grupos genéticos foi estimado pelo maior valor de LnP(k) usando o software STRUCTURE HARVESTER (EARL; VONHOLDT, 2012).

3. RESULTADOS

3.1. SELEÇÃO DE *PRIMERS* E NÚMERO ÓTIMO DE *LOCI*

Doze *primers* foram selecionados a partir dos 42 inicialmente testados, por serem os mais promissores nos estudos genéticos de *F. atlantica*, pois apresentaram bandas mais distintas e melhores perfis de amplificação (Tabela 1). Assim, foram produzidos um total de 179 fragmentos dos quais 86 foram polimórficos, correspondendo a 46.6% de bandas polimórficas. Os primers mais polimórficos foram o UBC 816 (75%) e o UBC 834 (72.22%), enquanto o que apresentou maior conteúdo de informação polimórfica foi o UBC 818 (0.46). O tamanho dos fragmentos obtidos foi máximo para UBC 866 (2200pb) e mínimo para UBC 834 (330pb). O número ótimo de *loci* obtidos foi estimado em 82, com valor de *stress* de 0.018 e correlação correspondendo a 0.9913 (Figura 2).

Tabela 1. Doze *primers* ISSR selecionados para o estudo da diversidade genética de *Freziera atlantica*. Onde, TBN- total de bandas amplificadas, NBP- número de bandas polimórficas, PBP-porcentagem de bandas polimórficas, PM- peso molecular estabelecido com base em marcador de 100pb e PIC- conteúdo de informação polimórfica.

Primers	Sequences (5'-3')	TBN	NBP	PBP (%)	PM (max-min)	PIC
UBC 807	AGA GAG AGA GAG AGA GT	17	12	70,59	1480 - 400	0,18
UBC 810	GAG AGA GAG AGA GAG AT	18	7	38,89	1600 - 450	0,37
UBC 813	CTC TCT CTC TCT CTC TT	16	10	62,50	1700 - 420	0,25
UBC 814	CTC TCT CTC TCT CTC TA	14	7	50,00	1750 - 690	0,19
UBC 815	CTC TCT CTC TCT CTC TG	15	8	53,33	1400 - 400	0,28
UBC 816	CAC ACA CAC ACA CAC AT	12	9	75,00	1520 - 510	0,28
UBC 818	CAC ACA CAC ACA CAC AG	11	2	18,18	1500 - 520	0,46
UBC 827	ACA CAC ACA CAC ACA CG	18	13	72,22	2000 - 480	0,18
UBC 834	AGA GAG AGA GAG AGA GYT	18	6	33,33	1480 - 330	0,27
UBC 855	ACA CAC ACA CAC ACA CYT	17	7	41,18	1700 - 500	0,27
UBC 856	ACA CAC ACA CAC ACA CYA	11	3	27,27	2100 - 480	0,24
UBC 866	CTC CTC CTC CTC CTC	12	2	16,67	2200 - 600	0,38
TOTAL	-	179	86	46,60	-	-

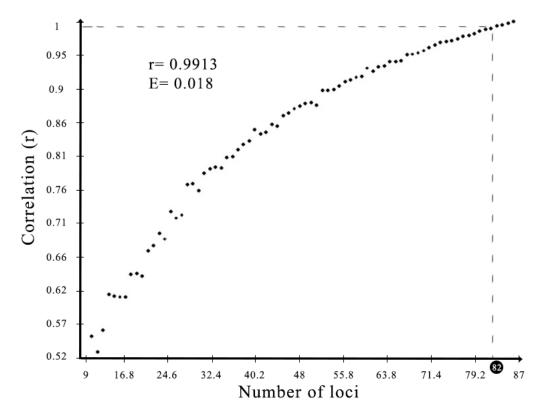


Figura 2. Número ótimo de loci obtidos para Freziera atlantica.

3.2. DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURAÇÃO INTRAPOPULACIONAL

Nossas análises indicaram que a população isolada de *F. atlantica* da Serra do Valentim apresentou índice de diversidade genética de Shannon (I) igual a 0,3950 e diversidade de Nei (H') igual a 0,2513. O número efetivo de alelos (Ne)

estimado para a população foi de 1,4092, enquanto o número de alelos observado (Na) foi 2.

Α análise de dissimilaridade genética (Figura 3) revelou heterogeneidade genética na população analisada. Foram formados seis grupos (A, B, C, 54, 55 e p33), onde A foi representado pelo maior número de indivíduos de F. atlantica (35 ind./79,5%), enquanto B e C constituíram apenas três indivíduos cada. Os indivíduos p33, 55 e 54 não tiveram relação com os conjuntos estabelecidos, permanecendo isolados no dendrograma. Os indivíduos geneticamente mais próximos foram 11 e 62 com dissimilaridade de 0,079 e são também vizinhos na população investigada. Entretanto, p33 e 35 foram considerados os mais distantes com dissimilaridade de 0,516 e também são indivíduos próximos entre si.

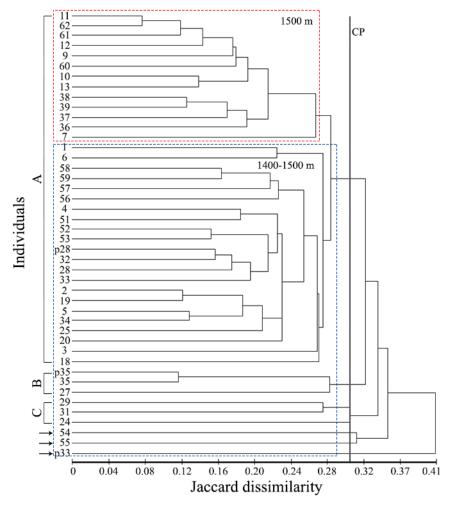


Figura 3. Análise de dissimilaridade genética utilizando os complementos do coeficiente de Jaccard da população da Serra do Valentim, ES, Brasil, onde: CP- ponto de corte. Método de aglomeração UPGMA. Correlação cofenética 0,7727.

O grupo A da análise de dissimilaridade genética apresentou um grupamento interno composto por quase todos os indivíduos situados à elevação de 1500 m (13 indivíduos). Este mesmo conjunto compartilha também alelos com um grupamento de indivíduos (inds. 51, 52, 53, 56, 57, 58 e 59) ocorrentes na extremidade de cotas mais baixas da população (1400-1500 m) (Figura 3).

Os indivíduos de *F. atlantica* na Serra do Valentim estão estruturados em uma única população genética (Figuras 4 e 5).

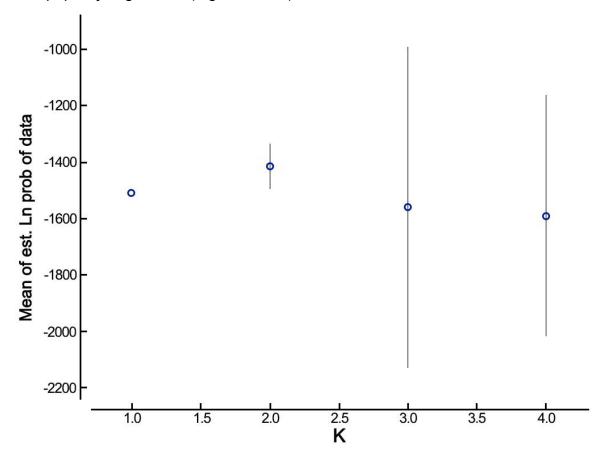


Figura 4. Gráfico da média ± o desvio padrão de LnP(K) para 20 corridas.

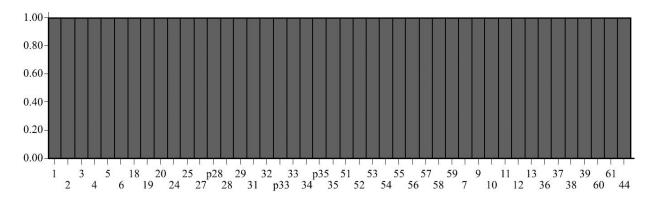


Figura 5. Estruturação genética pela abordagem bayesiana obtida utilizando o software STRUCTURE, onde está evidenciado a formação de um grupo genético identificado pela análise do LnP(K).

4. DISCUSSÃO

4.1. SELEÇÃO DE *PRIMERS*

O nível de polimorfismo para *Freziera atlantica* não seguiu claramente o padrão encontrado para muitas espécies da família Pentaphylacaceae e representantes de famílias estreitamente relacionadas como Theaceae, Styracaceae e Primulaceae (Tabela 2) em termos gerais. Entretanto, a percentagem de bandas polimórficas encontradas (46.6%) foi um pouco maior do que a da espécie com distribuição restrita e em perigo de extinção *Camellia nitidissima* (41,38%) (WEI et al., 2008). Nossos resultados, no nível de polimorfismo populacional, apontam indícios para polinização a curta distância, onde indivíduos próximos são mais prováveis de cruzarem entre si (bissexuais-bissexuais/bissexuais-pistilados), além da maior possibilidade de cruzamento entre aparentados. A dissimilaridade genética ajuda a apoiar esta hipótese, assim como o grau de isolamento e tamanho da população de *F. atlantica*.

Tabela 2. Parâmetros da diversidade genética, utilizando marcadores ISSR, entre espécies da família Pentaphylacaceae e outras bem relacionadas dentro da ordem Ericales, onde: PBP- porcentagem de bandas polimórficas, I- índice de diversidade genética de Shannon, H'- índice de diversidade genética de Nei.

Espécies	PBP (%)	I	H'	Referência
Apterosperma oblata (Theaceae)	77,38	0,4100	0,2746	Su et al. (2008)
Camellia brevistyla (Theaceae)	99,9	0,477	0,317	Su et al. (2017)
Camellia nitidissima (Theaceae)	41,38	0,2273	0,1525	Wei et al. (2008)
Camellia japonica (Theaceae)	90,1	0,5013	-	Lin et al. (2013)
Euryodendron excelsum (Pentaphylacaceae)	65,33	0,3626	0,2458	Su et al. (2009)

Continua...

...continuação

Espécies	PBP (%)		H'	Referência
Myrsine coriacea (Primulaceae) ^a	68,61	0,373	0,252	Paschoa et al. (2018)
Sinojackia dolichocarpa (Styracaceae)	72,99	0,3453	-	Cao et al. (2006)
Freziera atlantica (Pentaphylacaceae)	46,60	0,3950	0,2513	Este estudo

^aMédia dos parâmetros para a população da espécie estudada no Município de Iúna (Serra do Valentim), ES, Brasil.

4.2. DIVERSIDADE GENÉTICA E ESTRUTURAÇÃO INTRAPOPULACIONAL

Com base nos resultados encontrados para representantes Pentaphylacaceae e famílias botânicas relacionadas (e.g. SU et al., 2009; PASCHOA et al., 2018 - Tabela 2), consideramos os valores dos índices de diversidade genética intrapopulacional como sendo altos para F. atlantica, mesmo sob peculiaridades inerentes à sua distribuição local e geográfica e histórico de distúrbio. Alguns outros estudos demonstraram elevados níveis de diversidade genética de espécies ameaçadas de extinção e distribuição restrita (e.g. JIANG et al., 2018; LEE et al., 2018), embora alguns poucos tenham encontrado baixa variação genética dentro de populações (e.g. LI et al., 2018). Para *E. excelsum* (ver tabela 2), espécie arbórea rara com flores bissexuais, Su et al. (2009) sugeriram que alta diversidade e alto nível de polimorfismo genéticos podem ter sido uma amostra que restou de uma densa população da espécie no passado, antes de uma extração que dizimou diversos indivíduos.

Estudos anteriores atestaram que algumas estratégias como alta produção de sementes e, consequente, formação de abundante banco de sementes (e.g. LLORENS et al., 2004; HONNAY et al., 2008) e sistema de auto-incompatibilidade como mecanismo preventivo da auto-fertilização (e.g. CASTRIC e VEKEMANS, 2004; BARRET e HARDER, 2017) podem garantir a manutenção da alta diversidade genética dentro de uma população, compensando efeitos de distúrbios na paisagem (SAMPSON, 2016).

F. atlantica parece ser uma espécie tipicamente pioneira com baixa longevidade e alta produção de sementes (TEIXEIRA, 2018). Essa ultima característica representa um mecanismo para a sobrevivência da espécie pelo farto banco de sementes que mantém. Diversidade genética foi pouco ou nada influenciada em duas espécies de Grevillea após distúrbio antropogênico na

Austrália (LLORENS et al., 2018) sendo este fato atribuído, em parte, ao banco de sementes diverso e persistente dessas espécies. Assim, a manutenção de um extenso banco de sementes por *F. atlantica* pode ser um mecanismo importante para manter altos níveis de diversidade genética dentro da população, considerando incêndios recorrentes na vegetação.

Além disso, a auto-incompatibilidade pode ser, em parte, responsável pela manutenção da diversidade genética de *F. atlantica*. Em campo foi possível observar indícios de fertilização malsucedida em muitas flores estruturalmente bissexuais. Em termos de conservação, e considerando os impactos sucessivos como incêndios florestais na Serra do Valentim, mecanismos de auto-incompatibilidade em pequenas populações podem ser um agravante à variação genética (LEIMU, et al. 2006), pois este tipo de distúrbio reduz a demografia da população, dificultando a polinização cruzada entre os morfotipos de flores pistiladas e bissexuais.

A baixa heterogeneidade genética que encontramos para a população de *F. atlantica* na Serra do Valentim pode ser reflexo da própria distribuição agregada da espécie como observado para *Ixora margaretae* (VERHAEGEN, et al. 2013). No nosso caso, possivelmente a eficiência da polinização a menores distâncias parece moldar a estruturação genética de *F. atlantica*. O forrageamento por polinizadores parece seguir um padrão dependente da densidade, em que a maior disponibilidade de flores entre vizinhos favorece o menor esforço exigido para o processo de polinização (CASTILLA et al., 2016; CABALLERO et al., 2018). Então, espécies arbóreas com distribuição gregária, como é para *F. atlantica*, apresentam melhor desempenho na polinização em curta distância.

A proximidade genética entre indivíduos a 1500 m e indivíduos no limite inferior da cota altitudinal (1400 m) podem conceder indícios de que a dispersão de sementes é efetiva e possivelmente realizada por pássaros a longa distância, como para *Freziera candicans* Tul. (WILLMS e KAPELLE, 2006). Em *F. atlantica* encontramos frutos com vestígios de frugivoria por aves, sugerindo papel importante da avifauna na estruturação genética da população.

Por fim, de acordo com nossas análises, recomendamos a marcação e coleta de sementes de pelo menos dois indivíduos de cada grupo formado na estrutura genética, incluindo também os indivíduos não relacionados (p33, 55 e 54), pois garantirá uma amostra genética dessa população.

5. IMPLICAÇÕES PARA CONSERVAÇÃO DE Freziera atlantica

Este trabalho representa os primeiros passos para conhecimento dos aspectos biológicos e proposição de estratégias para conservação de *F. atlantica*. A diversidade genética é alta e parece ser mantida por aspectos biológicos da espécie relacionados à reprodução e produção de sementes.

Apesar da alta diversidade genética encontrada, é preciso considerar a vulnerabilidade dos indivíduos estudados frente aos impactos antrópicos recorrentes na vegetação, o que demanda atenção por autoridades junto às comunidades locais. Nesse cenário, propomos algumas ações que podem auxiliar na conservação do patrimônio genético de *F. atlantica* tanto *in situ* quanto *ex situ*.

Inicialmente, uma proposta para conservação do ambiente da espécie deve considerar a difusão de informações disponíveis às lideranças locais, visando minimizar os distúrbios antrópicos na vegetação e a reeducação dos comunitários para práticas não agressivas de uso e manejo da terra, principalmente os relacionados à utilização do fogo. Um segundo estágio, mais técnico, deve incorporar e aplicar o conhecimento científico adquirido por meio de mecanismos como plantio da espécie nas áreas degradadas pelos incêndios situadas em locais mais declivosos e elevados, incluindo monitoramento desse plantio. A participação das comunidades locais é imprescindível para obtenção de resultados positivos na conservação *in situ* (COSTA et al., 2018), garantindo também oportunidades para manejo futuro da espécie. Outra medida para conservação *in situ* é ampliar esforços para conservação dos remanescentes florestais nas montanhas úmidas da costa brasileira, preservando o habitat natural da espécie.

Conservação ex situ também é uma estratégia extremamente necessária para conservação genética de espécies (KASHIMSSHETTY et al., 2017), principalmente aquelas raras e ameaçadas de extinção. Para *F. atlantica*, consideramos que um planejamento adequado da coleta e da produção de sementes (BROADHURST et al., 2017) seria uma tática importante, visto que, além de garantir a manutenção da diversidade genética, irá assegurar também a utilização desse patrimônio na conservação de ecossistemas por meio de programas de restauração e conectividade de áreas (SCHMIDT et al., 2018). Outra vertente importante de ser ressaltada é a proteção da diversidade genética de *F. atlantica* junto a jardins botânicos como estratégia para aprimorar e difundir conhecimento, agregando

diversas instituições de pesquisa interessadas nos mais diversos experimentos relacionados à espécie (COSTA et al., 2018).

A fragmentação de habitats é a grande propulsora da perda da diversidade genética nas populações de espécies a nível global (HADDAD et al., 2015). Assim sendo, as estratégias para conservação genética elencadas aqui só serão cumpridas com engajamento e comunicação entre autoridades políticas e científicas (EDWARDS, 2017) em parceria com as comunidades locais.

6. AGRADECIMENTOS

Agradecemos de maneira especial à comunidade da Serra do Valentim pelo incentivo aos trabalhos continuados na Serra do Valentim. Agradecemos também ao Núcleo de Pesquisa Científica e Tecnológica em Meio Ambiente Silvicultura e Ecologia (NUPEMASE) e ao Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular (BqMol) pelo suporte prestado no desenvolvimento desse trabalho. Ressaltamos que o presente trabalho foi realizado com apoio da Coordernação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

7. REFERÊNCIAS

AAVIK, T.; HELM, A. Restoration of plant species and genetic diversity depends on landscape-scale dispersal. **Restoration Ecology**, v.26, n.S2, p.S92-S102, 2017.

ALEMAN, J.C.; JARZYNA, M.A.; STAVER, A.C. Forest extent and deforestation in tropical Africa since 1900. **Nature Ecology & Evolution**, v.2, p.26-33, 2017.

BANKS, S.C.; CARY, G.F.; SMITH, A.L.; DAVIES, I.D.; DRISCOLL, D.A.; GILL, A.M.; LINDENMEYER, D.B.; PEAKALL, R. How does ecological disturbance influence genetic diversity? **Trends in Ecology & Evolution**, v.28, n.11, p.670-679, 2013.

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

BLAMBERT, L.; MALLET, B.; HUMEAU, L.; PAILLER, T. Reproductive patterns, genetic diversity and inbreeding depression in two closely related Jumellea species with contrasting patterns of commonness and distribution. **Annals of Botany**, v.118, n.1, p.93-103, 2016.

- BROADHURST, L.; HOPLEY, T.; LI, L.; BEGLEY, J. (2017) A genetic assessment of seed production areas (SPAs) for restoration. **Conservation Genetics**, v.18, p.1257-1266, 2017.
- CAO, P.-J.; YAO, Q.-F.; DING, B.-Y.; ZENG, H.-Y.; ZHONG, Y.-X.; FU, C.-X.; JIN, X.-F. Genetic diversity of *Sinojackia dolichocarpa* (Styracaceae), a species endangered and endemic to China, detected by inter-simple sequence repeat (ISSR). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.34, n.3, p.231-239, 2006.
- CASTILLA, A.R.; POPE, N.; JHA, S. Positive density-dependent reproduction regulated by local kinship and size in an understorey tropical tree. **Annals of Botany**, v.117, n.319-329, 2016.
- CASTRIC, V.; VEKEMANS, X. Plant self-incompatibility in natural populations: a critical assessment of recent theoretical and empirical advances. **Molecular Ecology**, v.13, n.10, p.2873-2889, 2004.
- CAVALLERO, L.; MORALES, C.L.; MONTERO-CASTAÑO, A.; GOWDA, J.H.; AIZEN, M.A. Scale-dependent effects of conspecific flower availability on pollination quantity and quality in an invasive shrub. **Oecologia**, v.188, p.501-513, 2018.
- COSTA, M.L.M.N.; JACKSON, P.W.; FERNANDES, R.A.; PEIXOTO, A.L. Conservation of threatened plant species in botanic garden reserves in Brazil. **Oryx**, v.52, n.1, p.108-115, 2018.
- CRUZ, C.D. Programa Genes: diversidade genética. Viçosa, Brasil: UFV, 2008.
- DAVIES, S.J.; CAVERS, S.; FINEGAN, B.; WHITE, A.; BREED, M.F.; LOWE, A.J. Pollen flow in fragmented landscapes maintains genetic diversity following stand-replacing disturbance in a neotropical pioneer tree, *Vochysia ferruginea* Mart.. **Heredity**, v.115, p.125-129, 2015.
- DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, v.12, n.1, p.13-15, 1990.
- EARL, D.A.; VONHOLDT, B.M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. **Conservation Genetics Resources**, v.4, p.359-361, 2012.
- EDWARDS, C.E. Strengthening the link between international conservation policy and plant conservation genetics to achieve more effective plant conservation. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.102, n.2, p.397-407, 2017.
- FINLAY, C.M.V.; BRADLEY, C.R.; PRESTON, S.J.; PROVAN, J. Low genetic diversity and potential inbreeding in an isolated population of alder buckthorn (*Frangula alnus*) following a founder effect. **Scientific Reports**, v.7, n.1, 3010, 2017.
- HADDAD, N.M.; BRUDVIG, L.A.; CLOBERT, J. et al. Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. **Science Advances**, v.1, n.2, e1500052, 2015.

- HONNAY, O.; BOSSUYT, B.; JACQUEMYN, H.; SHIMONO, A.; UCHIYAMA, K. Can a seed bank maintain the genetic variation in the above ground plant population? **Oikos**, v.117, n.1, p.1-5, 2008.
- JIANG, Y.; LIU, X.; XIANG, W.; JIANG, Y.; HE, Y. Genetic diversity and structure analysis of the endangered plant species *Horsfieldia hainanensis* Merr. in China. **Biotechnology & Biotechnological Equipament**, v.32, n.1, p.95-101, 2018.
- JOLY, C.A.; METZGER, J.P.; TABARELLI, M. (2014) Experiences from the Brazilian Atlantic Forest: ecological findings and conservation initiatives. **New Phytologist**, v.204, n.3, p.459-473, 2014.
- KAHILAINEN, A.; PUURTINEN, M.; KOTIAHO, J.S. Conservation implications of species-genetic diversity correlations. **Global Ecology and Conservation**, v.2, p.315-323, 2014.
- KASHIMSHETTY, Y.; PELIKAN, S.; ROGSTAD, S.H. Effective seed harvesting strategies for the ex situ genetic diversity conservation of rare tropical tree populations. **Biodiversity and Conservation**, v.26, p.1311-1331, 2017.
- KIMURA, M.; CROW, J.F. The number of alleles that can be maintained in a finite population. **Genetics**, v.49, n.4, p.725-738, 1964.
- KRUSKAL, J.B. Multdimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. **Psychometrika**, v.29, n.1, p.1-27, 1964.
- LEIMU, S.; MUTIKAINEN, P.; KORICHEVA, J.; FISCHER, M. How general are positive relationships between plant population size, fitness and genetic variation? **Journal of Ecology**, v.94, n.5, p.942-952, 2006.
- LEE, S.-R.; CHOI, J.-E.; LEE, B.-Y.; YU, J.-N.; LIM, C.E. Genetic diversity and structure of an endangered medicinal herb: implications for conservation. **AOB Plants**, v.10, ply021, 2018.
- LEWONTIN, R.C. The apportionment of human diversity. **Evolution Biology**, v.6, p.381-398, 1972.
- LI, S.; GAN, X.; HAN, H.; ZHANG, X.; TIAN, Z. Low within-population genetic diversity and high genetic differentiation among populations of the endangered plant *Tetracentron sinense* Oliver revealed by inter-simple sequence repeat analysis. **Annals of Forest Science**, v.75, 74, 2018.
- LIN, L.; HU, Z.-Y.; NI, S.; LI, J.-Y.; QIU, Y.-X. Genetic diversity of *Camellia japonica* (Theaceae), a species endangered to East Asia, detected by inter-simple sequence repeat (ISSR). **Biochemical Systematics and Ecology**, v.50, p.199-206, 2013.
- LITKOWIEC, M.; LEWANDOWSKI, A.; WACHOWIAK, W. Genetic variation in *Taxus baccata* L.: A case study supporting Poland's protection and restoration program. **Forest Ecology and Management**, v.409, p.148-160, 2018.

- LLAURENS, V.; CASTRIC, V.; AUSTERLITZ, F.; VEKEMANS, X. High paternal diversity in the self-incompatible herb *Arabidopsis halleri* despite clonal reproduction and spatially restricted pollen dispersal. **Molecular Ecology**, v.17, n.6, p.1577-1588, 2008.
- LLORENS, T.M.; AYRE, D.J.; WHELAN, R.J. Evidence for ancient genetic subdivision among recently fragmented populations of the endangered shrub *Grevillea caleyi* (Proteaceae). **Heredity**, v.92, n.6, p.519-526, 2004.
- LLORENS, T.M.; AYRE, D.J.; WHELAN, R.J. Anthropogenic fragmentation may not alter pre-existing patterns of genetic diversity and differentiation in perennial shrubs. **Molecular Ecology**, v.27, p.1541-1555, 2018.
- MEDINA-MACEDO, L.; SEBBENN, A.M.; LACERDA, A.E.B.; RIBEIRO, J.Z.; SOCCOL, C.R.; BITTENCOURT, J.V.M. High levels of genetic diversity through pollen flow of the coniferous *Araucaria angustifolia*: a landscape level study in Southern Brazil. **Tree Genetics & Genomes**, v.11, 814, 2015.
- MICHENER, C.D.; SOKAL, R.R. A quantitative approach to a problem in classification. **Evolution**, v.11, p.130-162, 1957.
- MOJENA, R. Hierarchical grouping methods and stopping rules: an evaluation. **The Computer Journal**, v.20, n.1, p.359-363, 1977.
- MONA, S.; RAY, N.; ARENAS, M.; EXCOFFIER, L. Genetic consequences of habitat fragmentation during a range expansion. **Heredity**, v.112, p.291-299, 2014.
- NEI, M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. **Proceedings of the National Academy of Science**, v.70, p.3321-3323, 1973.
- PANNEL, J.R.; FIELDS, P.D. Evolution in subdivided plant populations: concepts, recent advances and future directions. **New Phytologist**, v.201, n.2, p.417-432, 2014.
- PASCHOA, R.P.; CHRIST, J.A.; VALENTE, C.S.; FERREIRA, M.F.S.; MIRANDA, F.D.; GARBIN, M.L.; CARRIJO, T.T. Genetic diversity of populations of the dioecious *Myrsine coriacea* (Primulaceae) in the Atlantic Forest. **Acta Botanica Brasilica**, v.32, n.3, p.376-385, 2018.
- PEÑAS, J.; BARRIOS, S.; BOBO-PINILLA, J.; LORITE, J.; MARTÍNEZ-ORTEGA, M.M. Designing conservation strategies to preserve the genetic diversity of *Astragalus edulis* Bunge, an endangered species from western Mediterranean region. **Peer J**, v.4, e1474, 2016.
- POTTER, K.M.; JETTON, R.M.; BOWER, A.; JACOBS, D.F.; MAN, G.; HIPKINS, V.D.; WESTWOOD, M. Banking on the future: progress, challenges and opportunities for the genetic conservation of forest trees. **New Forests**, v.48, n.2, p.153-180, 2017.

- SAMPSON, J.F.; BYRNE, M.; GIBSON, N.; YATES, C.J. Limiting inbreeding in disjunct and isolated populations of a woody shrub. **Ecology and Evolution**, v.6, n.16, p.5557-6019, 2016.
- SEXTON, J.P.; HANGARTNER, S.B.; HOFFMANN, A.A. Genetic isolation by environment or distance: which pattern of gene flow is most common? **Heredity**, v.68, n.1, p.1-15, 2014.
- SCHMIDT, I.B.; URZEDO, D.I.; PIÑA-RODRIGUES, F.C.M.; VIEIRA, D.L.M.; REZENDE, G.M.; SAMPAIO, A.B.; JUNQUEIRA, R.G.P. Community-based native seed production for restoration in Brazil the role of science and policy. **Plant Biology**, 2018. http://doi.org/10.1111/plb.12842
- SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, v.11, n.2, p.33-40, 1962.
- SU, M.-H.; HSU, T.-H.; WANG, C.-N.; LIN, K.-H.; CHIANG, M.-C.; KANG, R.-D.; NGUYEN, K.M.; NGUYEN, H. Genetic diversity of a novel oil crop, *Camellia brevistyla*, revealed by ISSR DNA markers. **Horticultural Science and Technology**, v.35, n.5, p.588-598, 2017.
- SU, Y.; WANG, T.; SUN, Y.; YE, H. High ISSR variation in 14 surviving individuals of *Euryodendron excelsum* (Ternstroemiaceae) endemic to China. **Biochemical Genetics**, v.47, n.1-2, p.56-65, 2009.
- SU, Y.-J.; ZAN, Q.-J.; WANG, T.; YING, Z.-M.; YE, H.-G. High ISSR variation in 24 surviving individuals of *Apterosperma oblata* (Theaceae) endemic to China. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.36, n.8, p.619-625, 2008.
- TEIXEIRA, J.M.G. Mecanismos de regeneração natural em área incendiada em uma floresta ombrófila densa montana, Espírito Santo, Brasil. 2017. 111f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) Universidade Federal do Espírito Santo, Jerônimo Monteiro, 2017.
- TORRES-FLOREZ, J.P.; JOHNSON, W.E.; NERY, M.F.; EIZIRIK, E.; OLIVEIRA-MIRANDA, M.A.; GALETTI, Jr P.M. The coming of age of conservation genetics in Latin America: what has been achieved and what needs to be done. **Conservation Genetics**, v.19, p.1-15, 2018.
- VERHAEGEN, D.; ASSOUMANE, A.; SERRET, J.; NOE, S.; FAVREAU, B.; VAILLANT, A.; GÂTEBLÉ, G.; PAIN, A.; PAPINEAU, C.; MAGGIA, L;, TASSIN, J.; BOUVET, J.-M. Structure and genetic diversity of *Ixora margaretae* an endangered species. **Tree Genetics & Genomes**, v.9, n.2, p.511-524, 2013.
- WEI, X.; CAO, H.-L.; JIANG, Y.-S.; YE, W.-H.; GE, X.-J.; LI, F. Population genetic structure of *Camellia nitidissima* (Theaceae) and conservation implications. **Botanical Studies** 49: 147-153, 2008.
- WEITZMAN, A.L. Taxonomic studies in *Freziera* (Theaceae), with notes on reproductive biology. **Journal of the Arnold Arboretum** 68: 323-334, 1987.

WILSON, M.C.; CHEN, X.-Y.; CORLETT, R.T. et al. Habitat fragmentation and biodiversity conservation: key findings and future challenges. **Landscape Ecology**, v.31, n.2, p.219-227, 2016.

WILMS, J.J.A.M.; KAPPELLE, M. Frugivorous birds, habitat preference and seed dispersal in a fragmented costa rica montane oak forest landscape. In: KAPPELLE, M. (Org.). **Ecology and conservation of neotropical montane oak forests**.. Berlin: Ecological Studies (Analysis and Synthesis), Springer, 2006. p.309-324

YEH, F.C.; YANG, R.; BOYLE, T. POPGENE **Version 1.32**. University of Alberta and Center for International Forestry Research: Ag/For Molecular Biology and Biotechnology Centre, 1997.

ZORZANELLI, J.P.F.; CARRIJO, T.T.; FIASCHI, P.; JARDIM, J.G.; SANTAMARÍA-AGUILAR, D.; AMORIM, A.M. A first record of *Freziera* (Pentaphylacaceae) from the Brazilian Atlantic Forest, with the description of a new species. **Systematic Botany**, v.40, n.4, p.1075-1080, 2015.

ZORZANELLI, J.P.F.; DIAS, H.M.; SILVA, A.G.; KUNZ, S.H. Vascular plant diversity in a Brazilian hotspot: floristic knowledge gaps and tools for conservation. **Brazilian Journal of Botany**, v.40, n.3, p.819-827, 2017.

6. CONCLUSÃO GERAL

Descrevemos uma nova espécie de planta com base em flores pistiladas e avançamos sobre a morfologia da espécie, determinando o sistema sexual como gionodioico e complementando a descrição da espécie com caracteres das flores bissexuais.

Nossos principais achados no nível da variação genética em *F. atlantica* é que, mesmo considerando a diversidade genética alta, existem peculiaridades intrínsecas da espécie, como sistema sexual e distribuição agregada, que podem afetar essas taxas. Além disso, distúrbios antrópicos recorrentes na vegetação podem reduzir essa variação no tempo.

Nosso estudo preenche uma lacuna importante sobre os aspectos biológicos para uma espécie recém-descrita e levanta informações para sua conservação e potencial de uso na restauração de ecossistemas montanos em áreas úmidas.

Além disso, nossos resultados fornecem oportunidades para avanços no conhecimento ecológico-funcional e biológico de *F. atlantica*, favorecendo a compreensão de seu dinamismo populacional, estabelecimento no ambiente natural e interações com outras espécies de plantas.

7. DIÁLOGO COM A SOCIEDADE

Aqui, desenvolvemos um tópico especial que apresenta a síntese dessa tese de doutorado em uma linguagem mais acessível à sociedade. Nosso objetivo é que os resultados de pesquisas científicas sejam universalizados, democratizados e compreendidos para o público em geral, como forma de retribuir o incentivo concedido por órgãos públicos mediante tributos e encargos sociais. Apresentamos, a seguir, um resumo das motivações e resultados, além de incluirmos algumas recomendações, quando necessário, para as temáticas abordadas neste trabalho.

7.1 CONHECENDO A ESPÉCIE

Breve histórico: inicialmente, a partir do processo de coletas de plantas na Serra do Valentim (Espírito Santo) e na Serra da Papuã (Bahia), muitas espécies foram sendo identificadas como procedimento comum do estudo com plantas. Uma delas, depois de algum tempo de pesquisa e análise em laboratório, resultou em uma espécie arbórea ainda não conhecida no mundo. O procedimento para detectar essa novidade envolve a busca por outros trabalhos onde são estudadas características morfológicas de outras espécies "aparentadas" e através da filtragem dessas informações e com auxílio de ilustrações botânicas e imagens das plantas é possível confirmar que a espécie é nova para a ciência. Grupos de pesquisa da Universidade Federal do Espírito Santo, Universidade Federal de Santa Catarina, Universidade Federal do Sul da Bahia, Universidade de Harvard e Universidade Estadual de Feira de Santana se uniram para fazer o que grandes botânicos faziam no passado: nomear uma espécie desconhecida. No sentido mais popular, seria "batizar" uma espécie.

<u>Descrevendo a espécie</u>: realizamos a descrição detalhada dessa planta que consistiu em caracterizar por meio de medidas, formas e tipos, as estruturas e órgãos como folhas, pelos, nervuras, flores, frutos e sementes. Homenageamos a espécie como sendo a primeira ocorrência para a Mata Atlântica, sendo então designada como *Freziera atlantica*. Nomes científicos são usuais em pesquisas, pois são escritos em latim e facilitam a comunicação entre pesquisadores, além de padronizar os nomes das plantas universalmente.

Importância do achado: a espécie ocorre em dois locais distantes entre si, com pequenas áreas de abrangência e histórico de perturbação humana, assim classificamos a espécie como ameaçada de extinção. O Brasil é um dos países que mais contribuem com publicações de novas espécies de plantas no planeta. Então, conservar os remanescentes de floresta que ainda existem é um grande desafio para o futuro.

7.2 BASES GENÉTICAS

Motivações: temos uma espécie ameaçada de extinção e na natureza ela é representada por árvores com sexos separados. Os indivíduos dessa planta também ocorrem próximos uns aos outros na vegetação. Essas características motivaram a realização de um estudo para conhecer a variação genética da espécie. A diversidade genética alta é um sinal de que a espécie parece ter meios de perpetuar de maneira satisfatória e evoluir com o tempo. A diversidade genética baixa indica que a espécie está passando por um declínio que pode levar ela a extinção.

<u>Laboratório</u>: extraímos o DNA de algumas árvores para detectar o nível de variação genética e indicar possíveis árvores matrizes para coleta de sementes e contribuir com futuros projetos de recuperação e restauração de áreas degradadas.

<u>Resultados</u>: encontramos que essa diversidade foi alta, entretanto para manter essa integridade são necessários esforços para conservação. Então, a alta variação genética só será mantida nessa espécie se medidas importantes forem tomadas.

Recomendações: deve existir sinergia entre cientistas e autoridades locais para definir estratégias de conservação e propostas para educação ambiental no entorno da vegetação. Recomendamos às comunidades rurais para zelarem pelos remanescentes de floresta, minimizando a utilização de práticas de manejo prejudiciais ao solo e a vegetação como queimadas para limpeza de pastagem. Incêndios recorrentes diminuem o número de indivíduos da espécie na vegetação, reduzindo a possibilidade de gerar frutos e sementes, levando à redução da diversidade genética. Resguardar esses remanescentes é de vital importância para

perpetuação e evolução de *Freziera atlantica*. Além disso, podem ser adotadas medidas para conservação da espécie em instituições de pesquisa como universidades, jardins botânicos e bancos de germoplasma.

7.3. CONCLUSÕES

Por que devemos trabalhar para a conservação de *F. atlantica*? Como todas as espécies de plantas, *F. atlantica* contribui para manutenção dos chamados serviços ambientais (por exemplo, proteção do solo, armazenamento de água e melhoria do microclima) e serviços ecossistêmicos (por exemplo, atração de polinizadores, produção de frutos e sementes), então isso é levado em consideração nas políticas públicas de recompensa aos produtores que conservam suas florestas. *F. atlantica*, apesar de ser uma espécie nova, possui potencial para uso em restauração ecológica em locais montanhosos, sendo uma oportunidade a coleta e produção de mudas para atender essas demandas que estão em alta no Brasil, a partir da assinatura de acordo para restauração de milhões de hectares no país. Além disso, conservar *F. atlantica* promove a manutenção de dispersores que podem ser específicos como as aves da Mata Atlântica.