



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

AMANDA BEZERRA DA SILVA

**FILOGENIA E EVOLUÇÃO DE ESTADOS DE CARÁTER ANCESTRAL DO
COMPLEXO GRAVISIA (BROMELIOIDEAE, BROMELIACEAE)**

RECIFE

2024

AMANDA BEZERRA DA SILVA

**FILOGENIA EVOLUÇÃO DE ESTADOS DE CARÁTER ANCESTRAL DO
COMPLEXO GRAVISIA (BROMELIOIDEAE, BROMELIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Biologia Vegetal. Área de concentração: Sistemática e evolução

Orientador (a): Rafael Batista Louzada

Recife

2024

Catálogo na Fonte:
Bibliotecária Natália Nascimento, CRB4/1743

Silva, Amanda Bezerra da.

Filogenia e evolução de estados de caráter ancestral do complexo *gravisia* (Bromelioideae, Bromeliaceae). / Recife. – 2023.

64f. : il., fig.

Orientador: Rafael Batista Louzada

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Biologia vegetal, 2023.

Inclui referências.

1. *Aechmea*. 2. Floresta Atlântica - neotrópico,. 3. Radiação Adaptativa. I. Louzada, Rafael Batista. (Orient.). II. Título.

AMANDA BEZERRA DA SILVA

**FILOGENIA EVOLUÇÃO DE ESTADOS DE CARÁTER ANCESTRAL DO
COMPLEXO GRAVISIA (BROMELIOIDEAE, BROMELIACEAE)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre(a) em Biologia Vegetal.

Aprovada em 27/02/2024.

BANCA EXAMINADORA

___(Participação via Videoconferência)___
Prof. Dr. Rafael Batista Louzada -
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

___(Participação via Videoconferência)___
Prof. Dr. Diego Sotero de Barros Pinangé -
Universidade Federal do Amazonas (UFAM)

___(Participação via Videoconferência)___
Prof. Dr. Geyner Alves dos Santos Cruz -
Universidade de Pernambuco (UPE)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conceder força e perseverança para chegar até aqui; agradeço também pelas pessoas que colocou em minha vida e por tudo de sagrado à minha volta, que não posso descrever em palavras.

Agradeço à minha família, especialmente à minha mãe, Célia Bezerra de Souza, ao meu pai, Carlos Henrique Gomes da Silva, e à minha avó, Joana Gomes da Silva, pelo apoio, amor e carinho constantes, por terem me ensinado valores essenciais que enriquecem minha alma e me proporcionam força para enfrentar o mundo a cada dia.

Ao meu companheiro, Matheus Rodrigues de Souza Felix, expressei minha gratidão pelo apoio e carinho que tornaram esta jornada mais fácil. Agradeço pelos conhecimentos técnicos em computação e programação, demonstrando paciência ao me ensinar, o que foi de grande auxílio para este trabalho e para minha formação em geral.

Às minhas amigas, Antônia Larissa Maia e Byanca Nilda Tavares Cavalcante, que tenho a felicidade de acompanhar desde a graduação, agradeço pela parceria nesta aventura de vir do Ceará para Pernambuco. Agradeço pelas conversas e risadas no café da manhã, pelo companheirismo constante. Sem dúvida, tudo teria sido mais difícil sem a presença de vocês.

Aos meus amigos queridos e companheiros de laboratório, Izabel Paiva, Yuri Rossine, Joilson Alves Viana e Larissa Moraes, que tive o prazer de encontrar em Recife, agradeço por serem meus orientadores, amigos, conselheiros e por todas as vezes que nos reunimos para superar desafios nas análises. Agradeço pelos conhecimentos compartilhados, pela ajuda em momentos de falhas nos experimentos, pela força nos momentos de desmotivação durante esta pesquisa e pela colaboração na coleta das *Aechmeas*, este último ponto especialmente a Yuri e Joilson. Agradeço também pelas bolachas com goiabada e pelas inúmeras risadas. Obrigado por serem não apenas excelentes pesquisadores, mas também pessoas de bem.

Aos demais colegas de laboratório que de alguma forma contribuíram de forma direta e indireta, expressei minha gratidão.

Ao Prof. Gustavo Souza, agradeço pela assistência na análise filogenética e pelas ideias interessantes que sugeriu. Obrigado por disponibilizar seu tempo para me ajudar.

Ao meu orientador, Rafael Batista Louzada, agradeço por aceitar me orientar, pela confiança e auxílio nas coletas.

Aos membros da banca, Diego Sotero de Barros Pinangé e Geyner Alves dos Santos Cruz, agradeço por dedicarem seu tempo para avaliar e contribuir com esta pesquisa.

Ao órgão financiador desta pesquisa, Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE), e ao Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, pela bolsa concedida e infraestrutura que foram essenciais para a execução desse trabalho.

A ciência não é somente compatível com a espiritualidade; ela é uma fonte profunda de espiritualidade.

Carl Sagan. O Mundo Assombrado Pelos Demônios.

RESUMO

As bromélias constituem uma das famílias de plantas com flores mais diversos e ecologicamente importantes da região neotropical. A subfamília Bromelioideae sofreu radiação recente e diversificou-se principalmente na região da floresta atlântica. Em consequência do elevado número de caracteres homoplásicos de baixo valor na delimitação dos gêneros e a baixa variação molecular, resultam em grandes desafios na sua resolução taxonômica. Dentro desta subfamília encontra-se o Complexo Gravisia, que compreende um conjunto de espécies pertencentes ao gênero *Aechmea* subg. *Aechmea* com características morfológicas de inflorescência similares, distribuídas na região nordeste da floresta atlântica. Sob este cenário, hipotetizamos que o complexo Gravisia é um grupo não monofilético, formado por espécies geograficamente próximas e seus caracteres diagnósticos são homoplásicos. Nesse estudo, realizamos uma análise filogenética utilizando três marcadores nucleares (AGT1, ETS, phyC) e um marcador plastidial (matK), juntamente com uma reconstrução dos estados de caráter ancestrais e exploramos sua biogeografia. Nossos resultados revelaram que o complexo Gravisia não é monofilético, consistindo em uma linhagem com clados distintos que incluem táxons dos gêneros *Aechmea*, *Portea* e *Canistrum*. O pólen pantoporado é um caráter ancestral de todas as espécies dessa linhagem, a cor da pétala/sépala amarelo/alaranjado surge em outras linhagens de bromelioide, no entanto, se levado em consideração sua distribuição geográfica, apresentam validade taxonômica. Todas as espécies nesta linhagem estão concentradas na região nordeste da floresta atlântica, exibem um elevado grau de endemismo, sugerindo uma possível influência dos eventos do holo-pleistoceno em sua diversificação. Este estudo ressalta a complexidade e a importância da análise filogenética integrada com dados morfológicos e biogeografia para uma compreensão mais profunda da diversidade e evolução das bromélias, especialmente no contexto do Complexo Gravisia.

Palavras-chave: *Aechmea*, Floresta Atlântica, Neotrópico, Radiação Adaptativa.

ABSTRACT

Bromeliads constitute one of the most diverse and ecologically important groups of flowering plants in the neotropical region. The subfamily Bromelioideae underwent recent radiation and diversified primarily in the Atlantic forest region. Due to the high number of low-value homoplastic characters in delimiting genera and low molecular variation, they pose significant challenges in taxonomic resolution. Within this subfamily lies the Gravisia Complex, comprising a set of species belonging to the genus *Aechmea* subg. *Aechmea* with morphologically similar inflorescence characteristics, distributed in the northeastern region of the Atlantic forest. In this scenario, we hypothesize that the Gravisia Complex is formed by geographically proximate species, and their diagnostic characters are homoplastic. In this study, we conducted a phylogenetic analysis using three nuclear markers (AGT1, ETS, phyC) and a plastidial marker (matK), along with a reconstruction of ancestral characteristic states, and explored its biogeography. Our results revealed that the Gravisia Complex is not monophyletic, consisting of a lineage with distinct clades that include taxa from the genera *Aechmea*, *Portea*, and *Canistrum*. Pantoporate pollen is an ancestral character of all species in this lineage; the yellow/orange color of the petal/sepal appears in other bromelioid lineages; however, when considering their geographical distribution, it holds taxonomic validity. All species in this lineage, concentrated in the northeastern region of the Atlantic forest, exhibit a high degree of endemism, suggesting a possible influence of holo-pleistocene events in their diversification. This study underscores the complexity and importance of integrated phylogenetic analysis with morphological data and biogeography for a deeper understanding of bromeliad diversity and evolution, especially in the context of the Gravisia Complex.

Keywords: *Aechmea*, Atlantic Forest, Neotropics, Adaptive Radiation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	11
2.1	CONTEXTUALIZAÇÃO TAXONÔMICA	11
2.1.1	A subfamília Bromelioideae	12
2.1.2	O gênero <i>Aechmea</i> Ruiz & Pav.	13
2.1.3	Complexo Gravisia	14
2.1.3.1	Relações filogenéticas no complexo Gravisia	16
2.2	CONTEXTUALIZAÇÃO GEOGRÁFICA	18
3	FILOGENIA E RECONSTRUÇÃO DE ESTADOS DE CARACTERES ANCESTRAIS DO COMPLEXO GRAVISIA (BROMELIACEAE, BROMELIOIDEAE)	20
4	PERNAMBUCO ENDEMISM CENTER: A VITAL REFUGE FOR THE DIVERSITY, RICHNESS AND DISTRIBUTION OF BROMELIADS	40
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
	REFERÊNCIAS	61

1 INTRODUÇÃO

Uma filogenia de forma simplificada é a representação gráfica que sintetiza as relações evolutivas entre espécies, organismos ou genes (Weyenberg e Yoshida, 2015). Com os avanços na obtenção de dados moleculares, tornou-se base para o atual sistema de classificação proposto para plantas, conforme estabelecido pelo APG I (Angiosperm Phylogeny Group, 1998). Filogenias juntamente com os métodos filogenéticos comparativos tem se revelado útil para a compreensão de padrões de distribuição, diversificação, reconstrução das relações históricas entre espécies, entre outras hipóteses evolutivas (Paradis, 2014). Tais informações são cruciais na delimitação de estruturas taxonômicas funcionais que refletem a verdadeira história evolutiva dos grupos, servindo como base para inúmeros estudos subsequentes.

As bromélias constituem uma das famílias mais multifacetadas entre as angiospermas em termos de diversidade de espécies, morfologia e ecologia. São um dos principais exemplos de radiação adaptativa nos neotrópicos e desempenham um papel funcional fundamental na estruturação de diversos ecossistemas devido à sua relação intrínseca com outros organismos, fornecendo recursos florais e micro-habitats (Benzing, 2000).

No contexto do território brasileiro as bromélias formam o segundo agrupamento mais diverso de plantas epífitas endêmicas da Mata Atlântica (Kersten, 2010). Esse domínio é considerado um dos principais *hotspots* mundiais devido aos elevados níveis de endemismo e à ameaça à sua biodiversidade (Myers et al., 2000).

Uma das principais subfamílias de Bromeliaceae a diversificar-se na Mata Atlântica é a Bromelioideae, sendo a segunda subfamília mais diversa (Schulte et al., 2004; 2009). Apresenta uma ampla variedade de caracteres morfológicos, muitas vezes homoplasias, e uma baixa taxa de evolução molecular, o que dificulta a compreensão das relações intra e intergenéricas dentro do clado (Evans et al., 2015). Um dos principais problemas sistemáticos é observado no gênero *Aechmea* Ruiz & Pav., que emerge em várias filogenias como um gênero não monofilético (Schulte et al., 2004; 2009; Givnish 2007;2011; Evans et al., 2015).

De forma a elucidar problemas taxonômicos em grandes gêneros como *Aechmea*, uma das principais estratégias adotadas é abordar relações evolutivas a nível inferior, incluindo subgêneros e complexos de espécies (Palma-Silva et al., 2016). Com o objetivo de contribuir para o conhecimento sistemático desse complexo, o presente estudo concentra-se no complexo *gravisia* estabelecido por Read e Luther (1991), que engloba um conjunto de espécies geograficamente

próximas e morfologicamente semelhantes inseridas em *Aechmea* subgênero *Aechmea*, caracterizados principalmente pelas flores sésseis, pétala e sépalas de cor amarelo/alaranjado e inflorescência vermelho/alaranjado. Sua história taxonômica é complexa, onde primeiro foi estabelecido como gênero *Gravisia* por Mez em 1981 e a relação filogenética entre os táxons ainda não foi esclarecida.

A filogenia mais abrangente para esse complexo foi conduzida usando dados de Polimorfismo de Comprimento de Fragmento Amplificado (AFLP), que objetivou elucidar as relações filogenéticas entre o gênero *Portea* e o complexo *Gravisia* (Heller et al., 2015). A análise apresentou baixo suporte estatístico, limitando conclusões mais robustas sobre as relações entre as espécies. É importante notar que filogenias baseadas em AFLP possuem limitações, incluindo suporte estatístico artificial, dificuldades na inferência de homologies, possível não independência dos fragmentos, assimetria na probabilidade de perda e ganho de fragmentos, e desafios na distinção entre bandas heterozigóticas e homozigóticas (Koopman, 2005). Essas limitações, particularmente relevantes em grupos de plantas com histórias evolutivas complexas, como o núcleo bromelioideae, podem resultar em conclusões equivocadas da filogenia.

Diante do exposto, esta pesquisa foi conduzida considerando como hipótese principal que o complexo *gravisia* não é monofilético, sendo composto por espécies geograficamente próximas cujas características diagnósticas se assemelham devido a homoplasias.

A dissertação está organizada em dois capítulos. O primeiro capítulo apresenta a filogenia do complexo e avalia a validade dos caracteres taxonômicos, enquanto o segundo capítulo se concentra no estudo da distribuição geográfica e conservação das espécies.

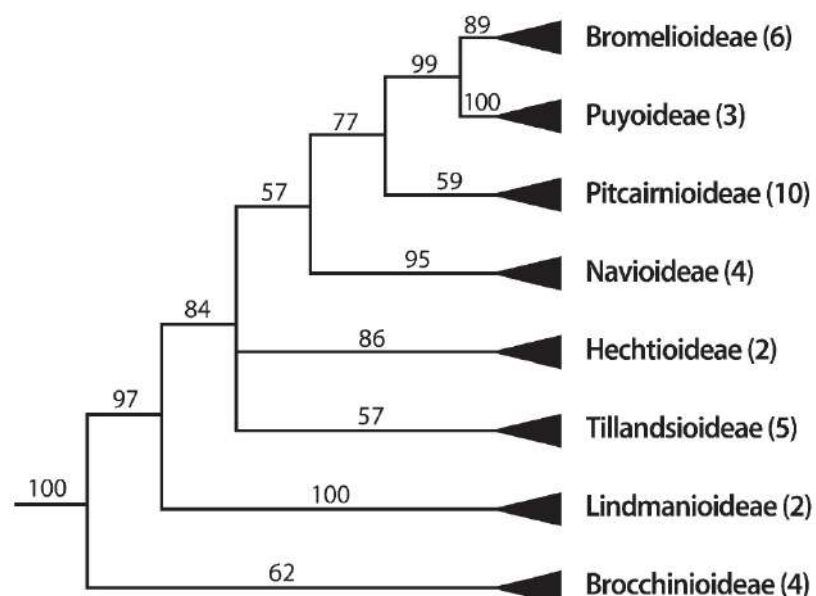
2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 CONTEXTUALIZAÇÃO TAXONÔMICA

A família Bromeliaceae é suportada por dados moleculares e morfológicos, inserido na ordem Poales, compreendendo aproximadamente 3.750 espécies distribuídas entre 81 gêneros (APG IV, Gouda, Butcher & Dijkgraaf, const. atualização). São plantas herbáceas perenes, podendo ter hábitos rupícolas terrícolas ou epífitas, com folhas alternas espiraladas, rosuladas ou alterna-dística, podendo formar fitotelmo, suas inflorescências são geralmente terminais, podendo ser raramente axilares com brácteas vistosas de variadas formas (Benzing, 2000; Flora e Funga do Brasil).

Toda sua diversidade foi tradicionalmente subdividida em três subfamílias (Pitcairnioideae, Bromelioideae e Tillandsioideae) com base em caracteres morfológicos das estruturas reprodutivas (Smith & Till, 1998). Entretanto, de acordo com uma filogenia produzida com dados plastidiais foi demonstrado que Pitcairnioideae era parafilética exigindo uma nova circunscrição para a família e a descrição de quatro novas subfamílias, sendo estas: Brocchinioideae, Hechtioideae, Lindmanioideae, Navioideae, Pitcairnioideae, Puyoideae e a manutenção de Bromelioideae e Tillandsioideae (Givnish et al., 2007;2011)(Figura 1).

Figura 1 - Árvore de máxima parcimônia proposta por Givnish et al., (2007), com dados plastidiais de ndhF, onde é proposta a relação entre as oito subfamílias: Bromelioideae, Puyoifeae, Pitcairnioideae, Navioideae, Hechtioideae, Tillandsioideae, Lindmanioideae e Brocchinioideae.



2.1.1 A subfamília Bromelioideae

Bromelioideae é a segunda subfamília mais diversa em Bromeliaceae. É caracterizada morfológicamente por frutos baga indeiscentes, ovário ínfero ou semi-ínfero, óvulos obtusos a caudados longos e a presença de espinhos nas margens das folhas (Smith & Downs, 1979; Givnish et al., 2007;2011).

A datação de dados moleculares estima que a subfamília tenha surgido a cerca de 10 milhões de anos, sugere-se que um ancestral com metabolismo C3, de hábito terrícola e não formador de tanque, tenha se disseminado do norte dos Andes em direção ao sul, atravessando as cordilheiras e posteriormente, alcançando o sudeste e leste do Brasil (Givnish et al, 2011). A maior expansão de gêneros ocorreu aproximadamente há 5,5 milhões de anos, coincidindo com a colonização do escudo Brasileiro. Nesse novo ambiente, sofreu radiação adaptativa, sobretudo na Mata Atlântica, onde a distribuição geográfica dessas plantas concentra-se predominantemente no sudeste da América do Sul (Horres et al., 2007; Schulte et al., 2005; 2009) .

Duas linhagens principais são reconhecidas dentro de Bromelioideae. Uma linhagem forma um clado "basal" de diversificação antiga, é composto por espécies terrestres não formadoras de tanque. Uma segunda linhagem de diversificação recente, reconhecida pelo desenvolvimento de tanque e epifitismo, designado como Bromelioideae nucleares ou Core bromelioideae. Este clado inclui a maior parte dos gêneros da subfamília (Schulte et al., 2005;2009).

As primeiras linhagens a divergirem foram *Greigia* Regel, *Ochagavia* Phil., *Fascicularia* Mez, *Deinacanthon* Mez, *Bromelia* Juss., e sua posição é corroborada na maioria das filogenias, enquanto a relação entre os táxons permanece incerta.

O clado Bromelioideae nuclear apresenta os maiores desafios taxonômicos e sistemáticos da subfamília. As linhagens dentro desse clado apresentam baixa resolução filogenética, com o aparecimento de muitas politomias. Contudo, Schulte et al. (2005) observou dois grupos exibindo padrões de distribuição distintos: o Grupo I, com todas as espécies restritas à América Central, e o Grupo II, distribuídas principalmente na Mata Atlântica. A caracterização morfológica utilizada na delimitação inter e infragenérica não é sustentada filogeneticamente, surgindo múltiplas vezes em diferentes linhagens. Como consequência, muitos gêneros são descritos com base em caracteres homoplásicos. Além disso, uma baixa taxa de variação molecular é observada em Bromeliaceae como um todo, o que contribui para as dificuldades encontradas dentro da subfamília (Schulte et

al., 2005; 2009; Horres et al., 2007; Givnish et al., 2011; Silvestro et al., 2014; Evans et al., 2015).

2.1.2 O gênero *Aechmea* Ruiz & Pav.

O gênero *Aechmea* Ruiz & Pav (244 sp.), representa parte substancial dos problemas taxonômicos encontrados no Clado Bromelioideae, onde estão circunscritas a maioria das espécies da subfamília (et al., 2011; Evans et al 2015). O tratamento taxonômico mais amplamente aceito para o gênero foi proposto por Smith e Downs (1979), que classificaram o gênero em oito subgêneros, baseados em características da inflorescência e estruturas florais. Estes subgêneros são: *Aechmea*, *A. subg. Podoaechmea*, *A. subg. Lamprococcus*, *A. subg. Ortigiesia*, *A. subg. Platyaechmea*, *A. subg. Pothuava*, *A. subg. Macrochordion* e *A. subg. Chevaliera*.

A caracterização do gênero abrange um amplo espectro de variação morfológica, o que resultou na sinonimização de diversos outros gêneros dentro de *Aechmea*. Portanto, o gênero é caracterizado por ser composto por ervas perenes, geralmente acaulescentes, com folhas densamente rosuladas ou fasciculadas, frequentemente formadoras de tanques. Além disso, apresenta um pedúnculo bem desenvolvido e inflorescências simples ou compostas. Suas flores podem ser dispostas de maneira dística ou política, sendo sésseis ou estipitadas. As sépalas podem ser livres ou conatas, geralmente apresentando forte assimetria, enquanto as pétalas são livres, com apêndices basais. O ovário é totalmente ínfero, e os óvulos são caudados (Smith e Downs, 1979).

Os autores já reconheciam a ambiguidade na caracterização do gênero e polifilia, que posteriormente foi confirmado por diversos estudos filogenéticos em Bromeliaceae (Faria et al 2004; Schulte et al., 2005; 2009; Sass e Specht, 2010; Evans et al, 2015). O gênero emerge em linhagens distintas relacionada com *Canistrum*, *Hohenbergia*, *Bilbergia* entre outros gêneros, contribuindo para o surgimento de politomias no clado Core Bromelioideae (Schult et al., 2005; 2009; Horrores et al., 2007; Evans et al, 2015). Desde então, trabalhos têm sido conduzidos com o propósito de esclarecer as relações dentro do gênero (ex. Sass e Specht, 2010; Heller et al., 2015; Goetze et al., 2017; Maciel et al., 2018).

Na filogenia mais abrangente para o gênero foi observado a formação de clados composto por espécies geograficamente próximas, sugerindo que caracteres taxonômicos utilizados na verdade podem estar relacionados com conservadorismo de nicho ecológico (Sass e Specht, 2010). No entanto, devido à estabilidade taxonômica do gênero, este ainda é amplamente utilizado em muitos trabalhos florísticos, taxonômicos e filogenéticos.

2.1.3 Complexo Gravisia

Gravisia é um complexo de espécies morfológicamente relacionadas e geograficamente próximas inserido em *Aechmea* subgen. *Aechmea* (Fig. 1) descrito por Read e Luther (1991).

Este complexo foi primeiro circunscrito como gênero em 1981 por Carl Mez que estabeleceu o gênero *Gravisia* com base na morfologia polínica e nas características das flores (flores sésseis), sendo este último caráter um dos principais usados para distingui-lo do gênero *Portea* Brongn. ex K. Koch, que é morfológicamente similar. Subsequentemente, Smith (1970) combinou o gênero *Gravisia* em *Aechmea* subgen. *Aechmea*, sob a justificativa que os caracteres polínicos não seriam suficientes para separação dos gêneros. Então Read & Luther (1991) propuseram o Complexo Gravisia após observarem a notável semelhança morfológica e uma progressiva modificação e congestão da inflorescência entre as espécies. Por serem muitos semelhantes em sua forma vegetativa, as principais semelhanças dizem respeito à caracteres da inflorescência sendo estas bipinada/tripinada/paniculada, pedúnculo, brácteas do pedúnculo, brácteas primárias e brácteas florais vermelhas/alaranjadas, flores sésseis/semisésseis e pétalas grandes de cor amarela. Para esclarecer a taxonomia deste complexo, uma chave de identificação das espécies foi desenvolvida, baseada principalmente no tamanho das brácteas primárias em relação aos ramos, comprimento das brácteas florais e na congestão das flores nos ramos (Read e Luther, 1991). Um breve histórico da circunscrição taxonômica dos membros do complexo é apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Circunscrição taxonômica dos membros de Gravisia de acordo com diferentes autores. Espécies marcadas com “-” forma excluídas do grupo pelos autores ou não foram mencionadas nas referências.

Mez (1891, 1896, 1934, 1935); Smith (1941, 1962, 1967)	Smith (1970)	Read e Luther (1991)	Leme e Siqueira-Filho (2007 b)
<i>Gravisia exudans</i>	<i>Aechmea aquilega</i>	<i>A. aquilega</i>	<i>A. aquilega</i>
<i>G. aquilega</i>			
<i>G. capitata</i>	<i>A. capitata</i>	-	-
<i>G. aripensis</i>	<i>A. aripensis</i>	-	-
<i>G. brassicoides</i>	<i>A. brassicoides</i>	-	-

<i>G. chrysocoma</i>	<i>A. aquilega</i> var. - <i>chrysocoma</i>		<i>A. chrysocoma</i>
<i>G. constantinii</i>	<i>A. constantinii</i>		<i>A. constantinii</i>
<i>G. lanjouwii</i>	<i>A. lanjouwii</i>	<i>A. lanjouwii</i>	<i>A. lanjouwii</i>
<i>G. fosteriana</i>	<i>A. mulfordii</i>	<i>A. mulfordii</i>	<i>A. mulfordii</i>
<i>G. rodriguesiana</i>	<i>A. rodriguesiana</i> -		-
<i>G. rubens</i>	<i>A. rubens</i>	<i>A. rubens</i>	<i>A. rubens</i>
		<i>A. callichroma</i>	<i>A. callichroma</i>
		<i>A. discordiae</i>	<i>A. discordiae</i>
		<i>A. emmerichiae</i>	<i>A. emmerichiae</i>
		<i>A. eurycorymbus</i>	<i>A. eurycorymbus</i>
			<i>A. amicorum</i>
			<i>A. blanchetiana</i>
			<i>A. catendensis</i>
			<i>A. cephaloides</i>
			<i>A. fraudulosa</i>
			<i>A.</i>
			<i>guainumbiorum</i>
			<i>A. lactifera</i>
			<i>A. leptantha</i>
			<i>A. sucreana</i>
			<i>A. tomentosa</i>
			<i>A. werdermanii</i>

2.1.3.1 Relações filogenéticas no complexo Gravisia

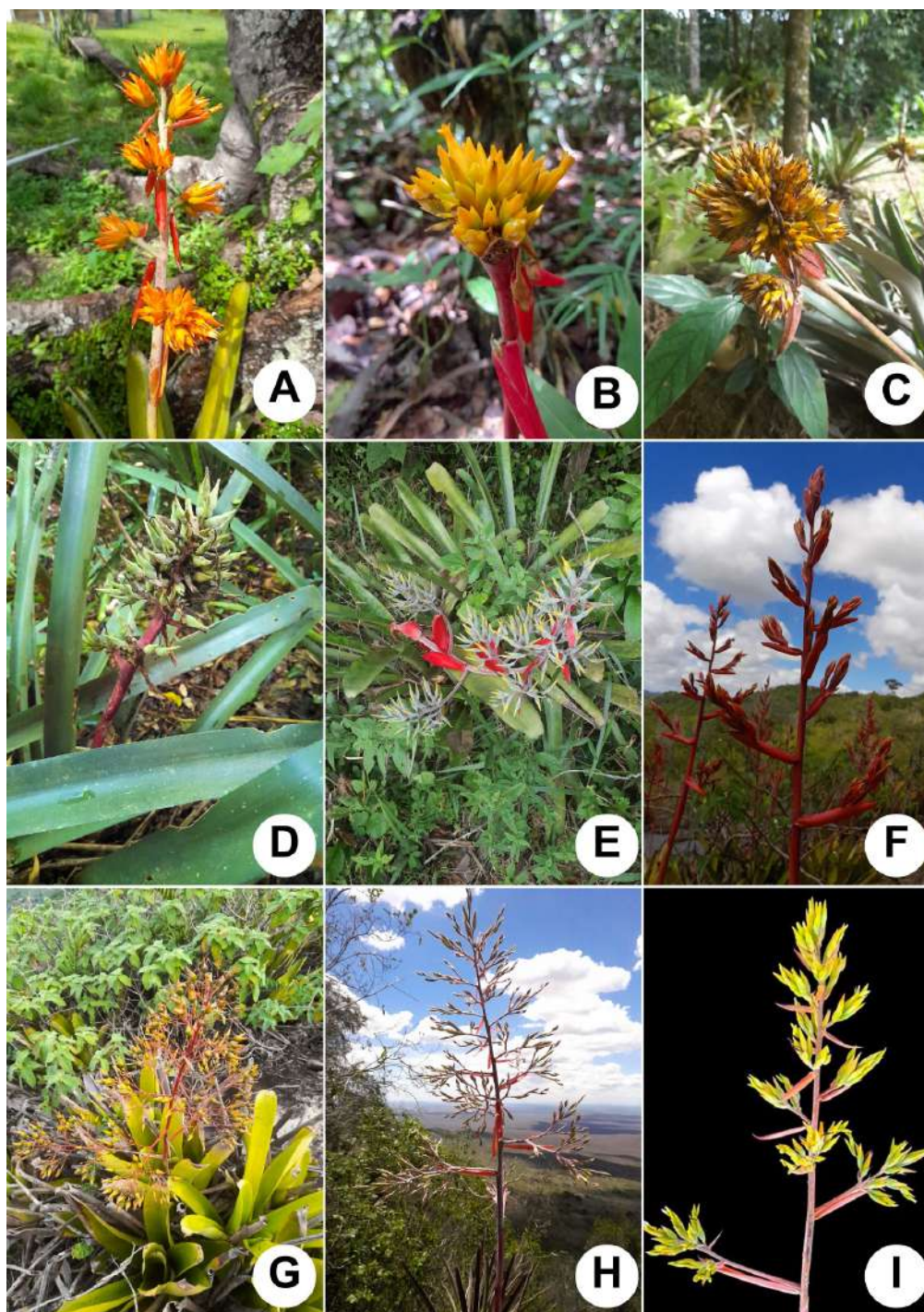
A relação filogenética do complexo já foi evidenciada em filogenias mais abrangentes para a subfamília Bromelioideae e gênero *Aechmea*, apesar da baixa amostragem. Na filogenia realizada por Horres et al., (2007) onde testou caracteres anatômicos com sequenciamento de marcadores plastidiais e de AFLP, o complexo gravisia foi sustentado com os dados de AFLP e anatomia foliar. Neste estudo foram amostradas seis espécies do complexo: *A. aquilega*, *A. mulfordii* que posteriormente foi sinonimizada em *A. aquilega*, *A. rubens*, *A. eurycorymbus* e a até então *Portea leptantha* que posteriormente foi combinada no gênero *Aechmea* por Siqueira-Filho e Leme (2007).

Uma filogenia mais abrangente com o complexo Gravisia foi realizada para o gênero *Portea* e o complexo Gravisia, que emerge como um clado monofilético no trabalho de Heller et al., (2015), onde os autores utilizaram dados de AFLP, com o objetivo de testar a monofiletismo do grupo *Portea*/Gravisia e a validade dos caracteres taxonômicos polínicos, cor da pétala, habitat e distribuição, sua amostragem incluiu 80% das espécies do grupo. No entanto, o baixo suporte estatístico impediu maiores inferências sobre a relação entre as espécies do grupo. Heller et al., (2015) obtiveram como principais resultados que o grupo *Portea*/Gravisia foi identificado como uma linhagem distinta dentro do núcleo bromelioideae, formado por subclados, compreendendo as espécies dos gêneros *Aechmea*, *Portea* e *Canistrum*, caracterizados pela cor da pétala e distribuição geográfica, enquanto a principal sinapomorfia para a linhagem foi o pólen pantoporado, indicando que esse caráter emergiu somente uma vez dentro do núcleo Bromelioideae.

No entanto filogenias inferidas com dados de AFLP apresentam limitações sendo estas: suporte estatístico artificial, devido a dificuldade de determinar a origem e homologia das bandas utilizadas como caracteres de presença e ausência; a possível não independência de fragmentos; assimetria na probabilidade de perder e ganhar fragmentos e problemas em distinguir bandas heterozigóticas de homozigóticas (Simmons et al. 2007).

Diante disso consideramos Gravisia como um complexo de espécies descrito por Read e Luther (1991), onde o objetivo dessa pesquisa é refazer a filogenia de Heller et al. (2015) com foco nas espécies desse complexo e testar a validade de caracteres morfológicos utilizados para a caracterização de Gravisia.

Figura 2 - Espécies que compõem o complexo gavisia e diversidade morfológica da inflorescência. A) *Aechmea aquilega* (Salisb.) Griseb. B) *Aechmea lactifera* Leme & J.A. Siqueira C) *Aechmea chrysocoma* Baker D) *Aechmea tomentosa* Mez E) *Aechmea constantinii* (Mez) L.B. Sm. F) *Aechmea guainumbiorum* J.A. Siqueira & Leme G) *Aechmea leptantha* (Harms) Leme & J.A. Siqueira H) *Aechmea werdermannii* Harms I) *Aechmea eurycorymbus* Harms.



2.2 CONTEXTUALIZAÇÃO GEOGRÁFICA

A Floresta Atlântica representa o segundo maior complexo florestal na região neotropical (Pinto et al., 2006). Apresenta uma singular diversidade biológica, caracterizada por elevados níveis de endemismo, notadamente devido à sua história biogeográfica complexa, marcada por longos períodos de conexão e retração entre as florestas tropicais Andinas e Amazônica, que exerceram uma profunda influência na composição de sua biota (Carnaval e Moritz, 2008; Sobral-Souza et al., 2015).

Devido à ampla variação latitudinal e longitudinal, observa-se uma diversidade de ambientes com distintas unidades fitogeográficas dentro desse ecossistema. Como resultado, o endemismo na Floresta Atlântica não é distribuído de maneira uniforme, permitindo o reconhecimento de centros de endemismo (Paglia et al., 2010).

Entretanto, esse ecossistema tem enfrentado pressões antrópicas recorrentes desde os tempos da colonização, estimando-se que mais de 80% de sua cobertura original tenha sido perdida. Por esse motivo, a Floresta Atlântica é classificada como uma das 25 áreas prioritárias para conservação da biodiversidade em escala global (Myers et al., 2000).

Na família Bromeliaceae, a região sudeste da Mata Atlântica, compreendendo as unidades federativas de Rio de Janeiro, São Paulo, Espírito Santo e a região Sul da Bahia, é um dos principais centros de diversidade e endemismo (Martinelli et al., 2008). Neste contexto, muitas espécies endêmicas desse domínio encontram-se ameaçadas de extinção, conforme registrado no Livro Vermelho da Flora do Brasil (2013).

Para o complexo em foco nesta pesquisa, a região nordeste da Mata Atlântica é de especial importância, pois aloca a distribuição principal de gravisia. A distribuição geográfica do complexo abrange desde o Planalto das Guianas até o norte do Espírito Santo, ocorrendo nos brejos da Caatinga e na Mata Atlântica, ocorrendo em dois centros de endemismo, o centro de endemismo Bahia e Pernambuco. Recentes levantamentos florísticos realizados na região nordeste da Mata Atlântica, mais especificamente ao Norte do Rio São Francisco, destacaram a relevância do complexo como uma assembleia representativa para a região, com a descrição de novas espécies (Siqueira-Filho e Leme, 2007; Maciel et al., 2015).

Na porção norte do Rio São Francisco, são identificadas duas áreas de endemismo: os brejos nordestinos e o centro de endemismo Pernambuco. Esta região compreende a floresta atlântica que ocorre desde Alagoas até o Rio Grande do Norte, podendo também incluir os enclaves do Ceará, dependendo da bibliografia consultada (Tabarelli et al., 2006). De acordo com

o padrão de distribuição de algumas plantas arbóreas e arbustivas, duas unidades biogeográficas podem ser identificadas nesta região: a floresta de terras baixas ao longo da costa e os brejos (Santos, 2002).

Em um contexto geral para a família Bromeliaceae no centro de endemismo Pernambuco, 45,5% das espécies registradas na região são endêmicas, encontrando-se sob ameaça devido ao intenso processo de fragmentação ocorrido nessa região (Siqueira-Filho et al., 2006). Mesmo diante desse cenário, novas espécies vêm sendo descobertas e estudos filogenéticos têm revelado relações e histórias evolutivas distintas entre as bromélias e diversos grupos de plantas (Gonçalves-Oliveira e Wanderley, 2017; Maciel et al., 2018; Cavalcanti e Silva, 2021; Ferreira e Louzada, 2020;2022; Leme et al., 2022).

3 FILOGENIA E RECONSTRUÇÃO ANCESTRAL DE ESTADOS DE CARACTERES DO COMPLEXO GRAVISIA (BROMELIACEAE, BROMELIOIDEAE)

Amanda B. Silva¹

Rafael B. Louzada¹

1 Laboratório de Morfo-Taxonomia e Evolução Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco

*Artigo a ser submetido na revista The Botanical Journal of the Linnean Society

Resumo

Estudos filogenéticos são fundamentais para a classificação taxonômica de plantas, especialmente na era da biologia molecular. A subfamília Bromelioideae abriga parte significativa das espécies da família Bromeliaceae e é marcada por eventos evolutivos complexos que impõem desafios na sua resolução sistemática. O Complexo Gravisia consiste em um conjunto de espécies pertencentes ao gênero *Aechmea* subg. *Aechmea* que compartilham de similaridades na morfologia e distribuição geográfica. A fim de compreender as relações entre os táxons e a validade dos caracteres taxonômicos, realizamos análises filogenéticas e conduzimos uma reconstrução de estado caracteres ancestrais. Os resultados obtidos indicam que o complexo Gravisia é monofilético, revelando uma linhagem de espécies distribuídas na região nordeste da Mata Atlântica, com clados distintos envolvendo táxons dos gêneros *Aechmea*, *Portea* e *Canistrum*. A presença comum de pólen pantoporado é um traço compartilhado por todas as espécies dessa linhagem, enquanto a variação nos caracteres de cor das pétalas e sépalas também se destaca como relevante se levado em consideração a distribuição geográfica. Nosso trabalho destaca a importância crucial de integrar dados filogenéticos e morfológicos para uma classificação taxonômica mais precisa, sobretudo em grupos evolutivamente dinâmicos, como as bromélias.

Palavras-chaves: Mata atlântica, CoreBromelioideae, homoplasia, radiação adaptativa.

Introdução

As bromélias destacam-se como um dos grupos de plantas com flores mais diversas e ecologicamente relevantes endêmicas da região Neotropical, abrigando 3.757 espécies distribuídas em 82 gêneros (Gouda, Butcher & Dijkgraaf, continuamente atualizado). Seus representantes ocorrem em uma ampla variedade de habitats por todo neotrópico, o que pode ser atribuído à evolução de características-chave, como tricomas peltados, formação de tanque na roseta e metabolismo CAM (Givnish et al., 2011). Esses traços surgiram independentemente em diversas linhagens ao longo do tempo (Silvestro et al., 2014).

Bromelioideae é foco de grande parte dos desafios sistemáticos em Bromeliaceae, abrigando um considerável número de espécies com ampla variação morfológica e ecológica (Palma-silva et al., 2016). Apesar do suporte estatístico relativamente baixo para essa subfamília, um conjunto de caracteres morfológicos, como frutos do tipo baga indeiscente, ovário ínfero ou semi-ínfero e a presença de espinhos nas margens das folhas, apoiam sua distinção (Givnish et al., 2007; 2011; Smith e Downs, 1979). O mesmo não é encontrado na sua classificação genérica, onde muitos gêneros são descritos sob caracteres morfológicos artificiais (Smith e Downs, 1979, Evans et al., 2011) .

Mesmo com avanços nos estudos moleculares que elucidaram consideravelmente as relações filogenéticas, a baixa resolução ainda limita conclusões taxonômicas mais robustas (Horres et al., 2007; Schulte et al., 2009; Evans et al. 2011; Silvestro et al., 2014) . Entretanto, identificam-se duas linhagens principais: uma de diversificação mais antiga, englobando a maioria das espécies terrícolas sem formação de tanque na roseta, e uma linhagem de diversificação recente, menos compreendida, que abriga a maioria das espécies da subfamília. Esta última é caracterizada pela formação de tanque na roseta e evolução do epifitismo, chamada informalmente de "Bromelioideae Nucleares" (Schulte et al., 2005, 2009; Silvestro et al., 2014) .

Aechmea Ruiz & Pav. (244 spp.) destaca-se como o maior gênero artificial inserido na linhagem das Bromelioideae nucleares (Faria et al., 2004; Horres et al., 2007; Sass e Specht, 2010, Givnish et al., 2011, Gouda, Butcher & Dijkgraaf, última atualização). A descrição do gênero baseia-se em caracteres taxonômicos abrangentes, resultando na sinonimização e inclusão de diversos gêneros e táxons dentro de *Aechmea*. Este gênero é subdividido em oito subgêneros com base em caracteres da inflorescência; no entanto, sua natureza polifilética já era sugerida (Smith e Downs, 1979). Estudos posteriores confirmaram essa hipótese, revelando histórias evolutivas complexas entre as linhagens do gênero, marcadas pela formação de clados geográficos e por caracteres morfológicos associados ao conservadorismo de nicho e convergência (Faria et al., 2004, Schulte et al., 2005;2009; Sass e Specht, 2010; Maciel et al., 2018).

O complexo *Gravisia* compreende um conjunto de espécies pertencentes ao gênero *Aechmea* subg. *Aechmea*, que apresentam relações morfológicas e geográficas (Read & Luther, 1991). Inicialmente, as espécies desse complexo foram descritas sob o gênero *Gravisia* por Mez em 1891, principalmente com base na morfologia do pólen, caracterizando-se por este ser pantoporado e por suas flores sésseis. A distinção deste gênero ocorria pela inserção da flor, diferenciando-o do gênero *Portea* Brongn. ex K. Koch, que também possui pólen pantoporado e características morfológicas relacionadas, mas com flores pediceladas. Em 1970, Smith questionou a relevância dos caracteres polínicos na classificação de Bromeliaceae, incorporando as espécies do gênero *Gravisia* em *Aechmea* subg. *Aechmea*.

A observação da semelhança morfológica e das alterações progressivas nas inflorescências entre as espécies levou Read e Luther (1991) a estabelecerem o Complexo *Gravisia*. As espécies predominam na porção nordeste da Mata Atlântica, com a caracterização morfológica das espécies que formam o complexo baseada principalmente em características da inflorescência, tais como panículas com pedúnculo e brácteas avermelhadas, flores sésseis ou subsésseis, pétalas grandes em tons de amarelo/alaranjado, e distribuição na região nordeste da Mata Atlântica. Desde então, novas espécies foram descritas e incorporadas ao complexo por Siqueira-Filho e Leme (2007), e a tabela 1 (Fig. 1) lista as espécies atualmente incluídas.

A primeira análise filogenética abrangente para o complexo, abrangendo 80% dos táxons amostrados, foi conduzida por Heller et al., (2015) utilizando dados de Polimorfismo de Comprimento de Fragmento Amplificado (AFLP). O objetivo era esclarecer as relações entre o complexo *Gravisia* e o gênero *Portea*, além de analisar a distribuição de caracteres polínicos. No entanto, o estudo apresentou baixo suporte estatístico e indicou que o complexo *Gravisia* não formava um grupo monofilético, consistindo em três clados distintos separados por sua distribuição geográfica, com um clado irmão composto por espécies do gênero *Portea*.

Filogenias inferidas a partir de dados AFLP apresentam limitações, incluindo a dominância de marcadores, que não diferencia entre homozigotos e heterozigotos, gerando ambiguidades na interpretação da presença ou ausência de bandas (Karp et al., 1996). A interpretação de bandas polimórficas também é desafiadora, exigindo a distinção entre polimorfismos evolutivos e aqueles causados por eventos recentes, como hibridação. A variabilidade no número de bandas geradas pode introduzir viés nos resultados da análise filogenética e a falta de informações sobre sequência específica de DNA limita a obtenção de detalhes precisos sobre as relações filogenéticas (Karp et al., 1996; Mechanda et al. 2004; Patwardhan et al., 2014). Diante dessas considerações, esta pesquisa tem como objetivo de aprimorar a resolução filogenética do grupo e testar a relevância dos caracteres taxonômicos, propomos: I) uma análise filogenética baseada em sequenciamento

Sanger de marcadores moleculares e II) a realização de uma reconstrução do caráter ancestral, utilizando características importantes da inflorescência que desempenham um papel crucial na caracterização do grupo, para testar a validade taxonômica.

Complexo Gravisia
<i>Aechmea aquilega</i> (Salisb.) Griseb.
<i>A. chrysocoma</i> Baker
<i>A. amicorum</i> B.R. Silva & H. Luther
<i>A. lactifera</i> Leme & J.A. Siqueira
<i>A. tomentosa</i> Mez
<i>A. constantinii</i> (Mez) L.B. Sm
<i>A. guainumbiorum</i> J.A. Siqueira & Leme
<i>A. leptantha</i> (Harms) Leme & J.A. Siqueira
<i>A. werdermannii</i> Harms
<i>A. blanchetiana</i> (Baker) L.B. Sm
<i>A. cephaloides</i> J.A. Siqueira & Leme
<i>A. catendensis</i> J.A. Siqueira & Leme
<i>A. fraudulosa</i> Mez
<i>A. callichroma</i> Read & Baensch
<i>A. rubens</i> (L.B. Sm.) L.B. Sm.
<i>A. emmerichiae</i> Leme
<i>A. discordiae</i> Leme
<i>A. eurycorymbus</i> Harms
<i>A. sucreana</i> Martinelli & C.M. Vierira

Tabela 1.: Circunscrição atual dos membros incluídos no complexo Gravisia de acordo com Siqueira-Filho e Leme (2007).



Figura 1. Representantes do complexo *Gravisia* e variação morfológica da inflorescência. A) *A. aquilega* (Salisb.) Griseb. B) *A. lactifera* Leme & J.A. Siqueira C) *A. chrysocoma* Baker D) *A. tomentosa* Mez E) *A. constantinii* (Mez) L.B. Sm. F) *A. guainumbiorum* J.A. Siqueira & Leme G) *A. leptantha* (Harms) Leme & J.A. Siqueira H) *A. werdermannii* Harms I) *A. blanchetiana* (Baker) L.B. Sm. Photos by: A.B. Silva A-I.

Materiais e Métodos

Amostragem

Realizamos a amostragem de 11 espécies pertencentes ao clado Gravisia, o que representa 54% do referido grupo. Esta seleção engloba a distribuição da maioria das espécies do clado, com exceção das espécies endêmicas que habitam a região norte do Espírito Santo (*A. sucreana*), sul da Bahia (*A. amicorum*) e o Planalto das Guianas (*A. lanjouwii*) e espécies cultivadas. As amostras contemplam toda a variabilidade morfológica identificada no complexo.

Como terminais para a análise, empregamos um total de 53 taxons. Destas, incluindo as pertencentes ao complexo, foram 28 espécies do gênero *Aechmea*, que exibiam caracteres morfológicos de inflorescência semelhantes às espécies do clado Gravisia. Além disso, utilizamos quatro espécies do gênero *Canistrum*, quatro espécies do gênero *Portea*, três espécies de *Hohenbergia*, três espécies de *Bilbergia*, duas espécies de *Araeococcus*, três de *Wittmackia* e três espécies de *Quesnelia*. Com vistas a estabelecer a raiz da árvore filogenética, empregamos as espécies *Cryptanthus diamantinensis* e *Hoplocryptanthus caracensis* e *H. ferrarius*.

Dados de sequência de DNA

O tecido foliar foi coletado de plantas vivas e, em seguida, armazenado em sílica. A extração de DNA foi conduzida de acordo com o protocolo estabelecido por Ferreira & Grattapaglia (1995), com modificações. Posteriormente, a qualidade e a quantificação do DNA extraído foram avaliadas utilizando um NanoDrop.

Foram selecionadas três regiões nucleares e uma região plastidial para análise: alanine-glyoxylate aminotransferase (*agt1*), phytochrome C (*phyC*), 26S-18S rRNA external transcribed spacer (ETS) e maturase K (*matK*). As amplificações das sequências foram realizadas de acordo com os protocolos utilizados e primers descritos em Silvestro et al. (2014), Louzada et al. (2014) e Sass & Specht (2010).

As sequências obtidas foram submetidas a processos de edição e alinhamento no software Ugene, utilizando o algoritmo ClustalW (Thompson et al., 1994). Em seguida, foram conduzidas análises estatísticas para cada alinhamento individual e para o alinhamento concatenado no software MEGA11 (Kumar et al., 2021).

Análise filogenética

O modelo de substituição de nucleotídeos mais adequado para cada região foi selecionado utilizando o software Jmodeltest2 (Darriba et al., 2012), com critério de seleção de Akaike (AIC), onde foram testados 24 modelos.

As árvores filogenéticas foram inferidas por meio de dois métodos: Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (IB). A análise de MV foi conduzida com o software RaxML (Stamatakis, 2014), empregando uma busca rápida com 1000 réplicas para estimar o suporte bootstrap. Foram utilizados dados não particionados, e o modelo de substituição para dados concatenados foi o HKY +I +G.

A análise de IB foi realizada com o software MrBayes (Ronquist et al., 2012) on XSEDE, através do Portal CIPRES Science. Cada região independente foi particionada e seu respectivo modelo de substituição foi aplicado (tabela 2). Foram empregadas quatro cadeias independentes de Markov Chain Monte Carlo (MCMC), com duas corridas contendo 100.000.000 de gerações cada. As primeiras 25% amostras das gerações foram descartadas, e as amostragens foram realizadas a cada 1000000 gerações. As árvores resultantes foram visualizadas e editadas utilizando o software FigTree v1.4.4.

Reconstrução de caráter ancestral

Foram utilizados caracteres discretos que se mostraram úteis na taxonomia do grupo, tanto na literatura especializada quanto na chave de identificação mais recente para as espécies pertencentes ao grupo em estudo. Os caracteres e seus respectivos estados foram codificados na matriz da seguinte forma: 1) e 2) Cor da pétala/sépala (A = Amarelo/Alaranjado, B=Roxo/Lilás/Rosa e Azul, C = Branco, D = Verde), 3) Inserção da flor (A = séssil, B =pedicelada) 4) Aberturas do pólen (A = Inaperturado, B = Suculado, C = Diporado, D = Tetraporado, E = Pantoporado, F = sem informação).

A melhor árvore filogenética obtida por meio do programa RaxML foi empregada como arquivo de entrada. A estimativa dos estados ancestrais dos caracteres foi conduzida utilizando o método de MV por meio da função "ace" disponível no pacote R "ape" (Paradis et al., 2004). Foram investigados dois modelos de Markov: o modelo "ER", que assume taxas iguais, e o modelo "ARD", que considera taxas diferentes para as transições entre estados.

Posteriormente, procedeu-se ao cálculo da log-verossimilhança para ambos os modelos, com o propósito de efetuar o teste de razão de verossimilhança, cujo resultado foi um valor de significância (P-value) utilizado para determinar a escolha entre os modelos. A partir desse teste, o modelo selecionado como mais apropriado para representar os dados foi o modelo "ER".

Além disso, para investigar a variabilidade inerente às simulações, foram conduzidas simulações de mapas de características estocásticas por meio da função "make.simmap" presente no pacote R "Phytools" (Revell, 2012). Nesse contexto, foram gerados um total de 100 mapas de características estocásticas, visando explorar a diversidade e incerteza associadas às simulações.

Resultados

Dados das sequências

A região nuclear AGT1 mostrou maior quantidade de sítios informativos, enquanto a região plastidial matK evidenciou menor quantidade de caracteres informativos entre os marcadores utilizados. Devido a topologia incongruente entre os marcadores nucleares e plastidial, a topologia com dados nucleares foi utilizada para a hipótese filogenética do complexo (apêndice 1). A matriz de dados combinados ficou com 3657 sítios, destes 335 foram sítios informativos (tabela 2).

Tabela 2: Estatísticas resumidas das matrizes moleculares alinhadas.

	AGT1	matK	phyC	ETS	REGIÕES CONCATENADAS
Número de acessos	46	49	41	38	53
Comprimento do alinhamento	466	1577	1074	540	3657
Caracteres variáveis	179	79	126	214	755
Caracteres informativos	105	26	51	101	335
Modelo de substituição de nucleotídeo	GTR+ I +G	HKY + I	SYM + I + G	HKY + G	HKY +I +G

Relações filogenéticas

Os algoritmos utilizados para análise filogenética, em geral, produziram topologias congruentes (Apêndice 2). A topologia da análise BI forneceu maiores suportes para os clados principais destacados (Fig. 3), no entanto apresentou muitas politomias, principalmente no clado onde surgem as espécies pertencentes ao complexo *Gravisia*, onde apresentou baixa resolução filogenética na relação entre os táxons.

Entretanto, a topologia da árvore de MV apresentou suportes ≥ 80 BS, para os principais clados destacados, exceto pelo clado de espécies de *Aechmea* ocorrentes na Amazônia composto por *A. mertensii* (G. Mey.) Schult. & Schult, *A. angustifolia* Poepp. & Endl. e *A. rodriguesiana* (L.B. Sm.) L.B. Sm. (fig. 3). Nos clados compostos por espécies do complexo *Gravisia* a análise também apresentou baixo suporte estatístico entre os terminais, porém apresentou clados com menor número de politomias. Dessa forma adotamos a reconstrução filogenética baseada em MV, como base principal para discussão dos nossos dados.

Ambas as análises refutam a hipótese do complexo *gravisia* como um grupo monofilético. No entanto, um clado, aqui nomeado como *Gravisia* (fig. 3), que corresponde a linhagem que inclui os três clados com espécies do complexo *Gravisia* e um clado com espécies do gênero *Portea*, emerge bem sustentado (1 PP, 97 BS) em ambas topologias que inclui outras espécies endêmicas da região nordeste da Mata Atlântica, pertencentes aos gêneros *Canistrum* e *Portea*, sugerindo também a não monofiletismo desses gêneros. Na topologia de MV, observamos a formação de clados geográficos dentro do clado *Gravisia*, evidenciando a presença de subgrupos de espécies distribuídas acima e abaixo do Rio São Francisco na Mata Atlântica. Notavelmente, os caracteres morfológicos acompanham os padrões de distribuição geográfica.

A formação de clados geográficos é evidente na maioria dos agrupamentos encontrados em nossa reconstrução filogenética. A espécie *A. rodriguesiana*, previamente associada a *Gravisia* o gênero descrito por Mez (1981), agrupa-se com outras espécies presentes na Amazônia.

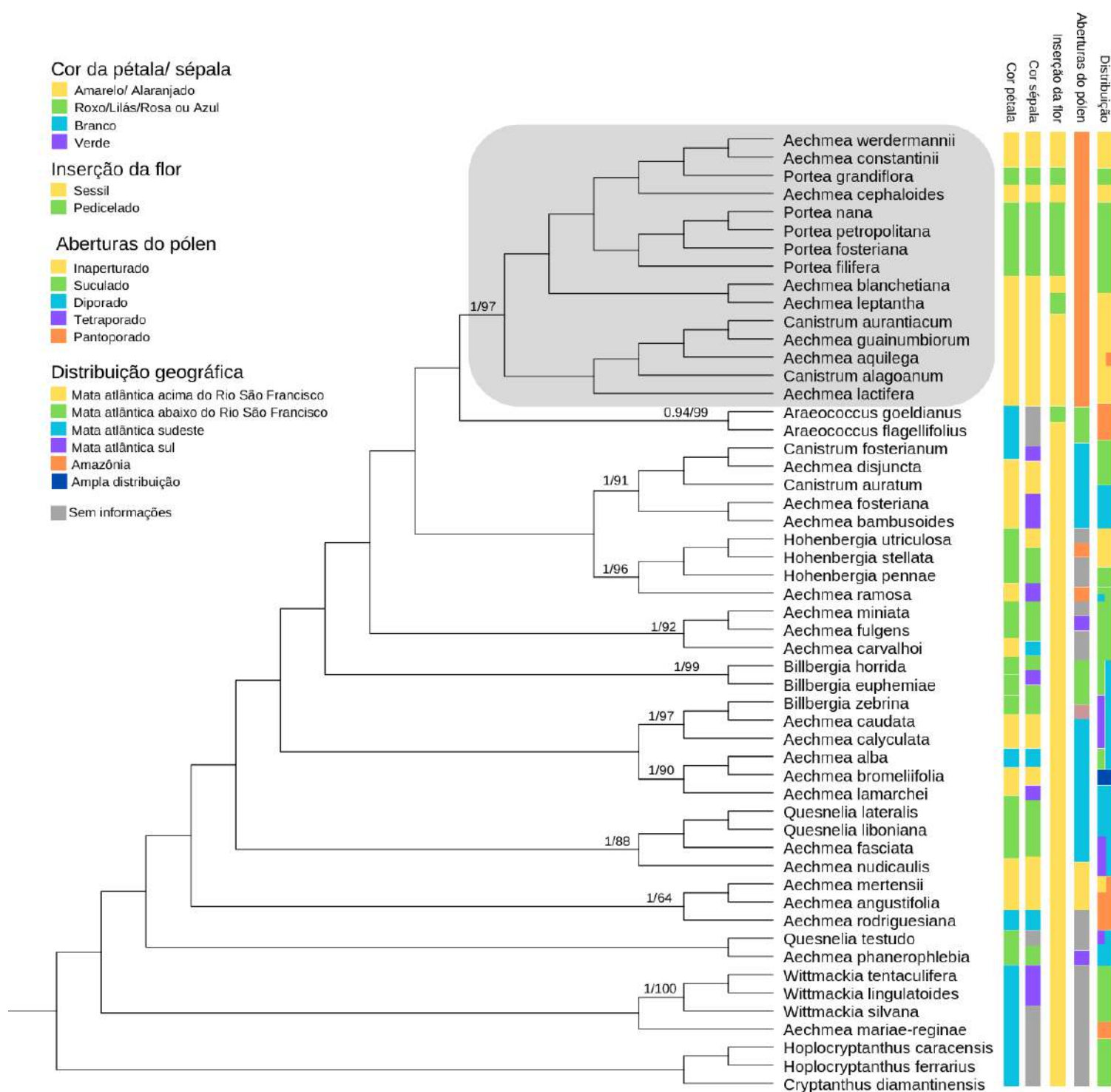


Figura 3. Topologia da árvore de Máxima Verossimilhança, os valores de suporte estatístico nos ramos estão representados da esquerda para direita com os valores a Probabilidade Posteriori (PP), seguidos do valor de Bootstrap (BS) e a distribuição de caracteres morfológicos e geográficos na filogenia.

Reconstrução de carácter ancestral

Os caracteres florais, como a cor da pétala e sépala são caracteres homoplásicos, surgindo em diversas linhagens das Bromelioideae nucleares (Figura 4 e 5). No entanto, a cor amarela das pétalas/sépalas emerge como ancestral do clado Gravisia, sendo predominante nas espécies ao norte do Rio São Francisco. Enquanto isso, a coloração Roxo/Lilás é uma mudança que surge nas espécies de *Portea*, distribuídas ao sul do Rio São Francisco. O mesmo padrão é observado para o carácter de inserção da flor: flores sésseis são predominantes nas Bromelioideae centrais, enquanto as flores pediceladas são características que surgem nas espécies de *Portea*. Quanto ao carácter polínico, o pólen pantoporado é ancestral e agrupa todos os táxons do clado Gravisia, surgindo raramente em outras linhagens.

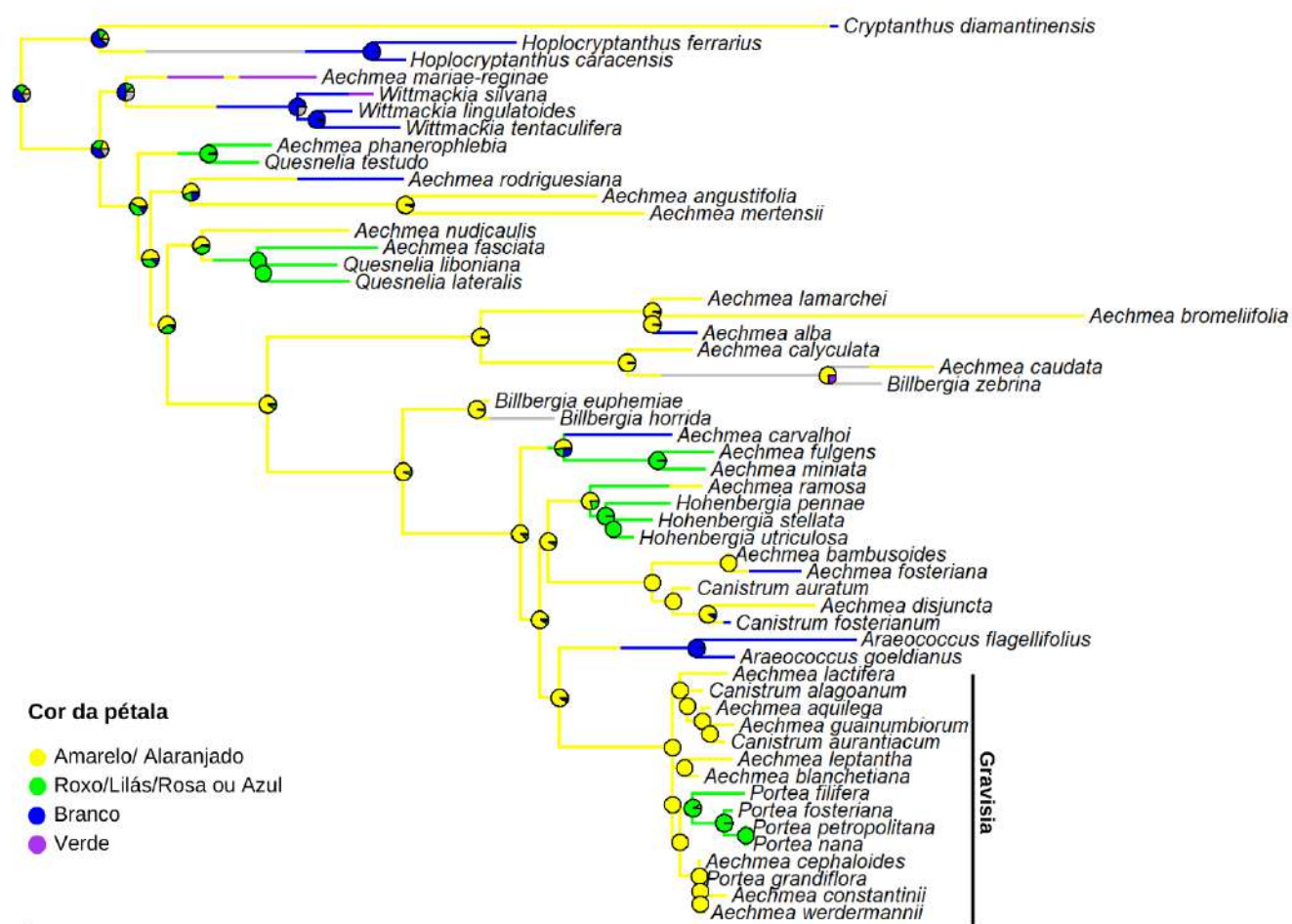


Figura 4. Reconstrução de caracteres ancestrais para caracteres florais (cor da pétala), mapeados na reconstrução filogenética de MV baseada em dados nucleares. Os diagramas de pizza nos nós indicam a probabilidade de ancestralidade da cor da pétala sob máxima verossimilhança.

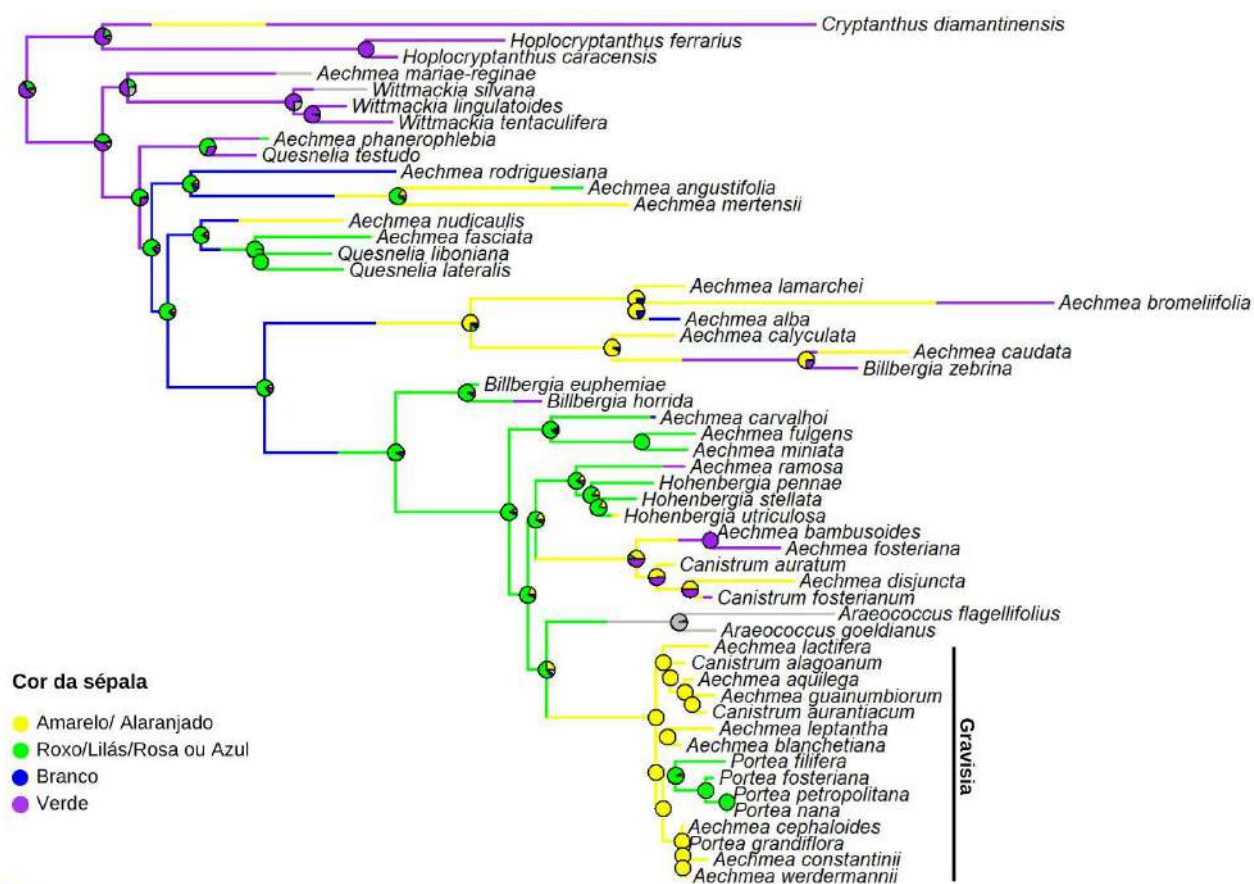


Figura 5. Reconstrução de caracteres ancestrais para caracteres florais (cor da sépala), mapeados na reconstrução filogenética de MV baseada em dados nucleares. Os diagramas de pizza nos nós indicam a probabilidade de ancestralidade da cor da sépala sob máxima verossimilhança.

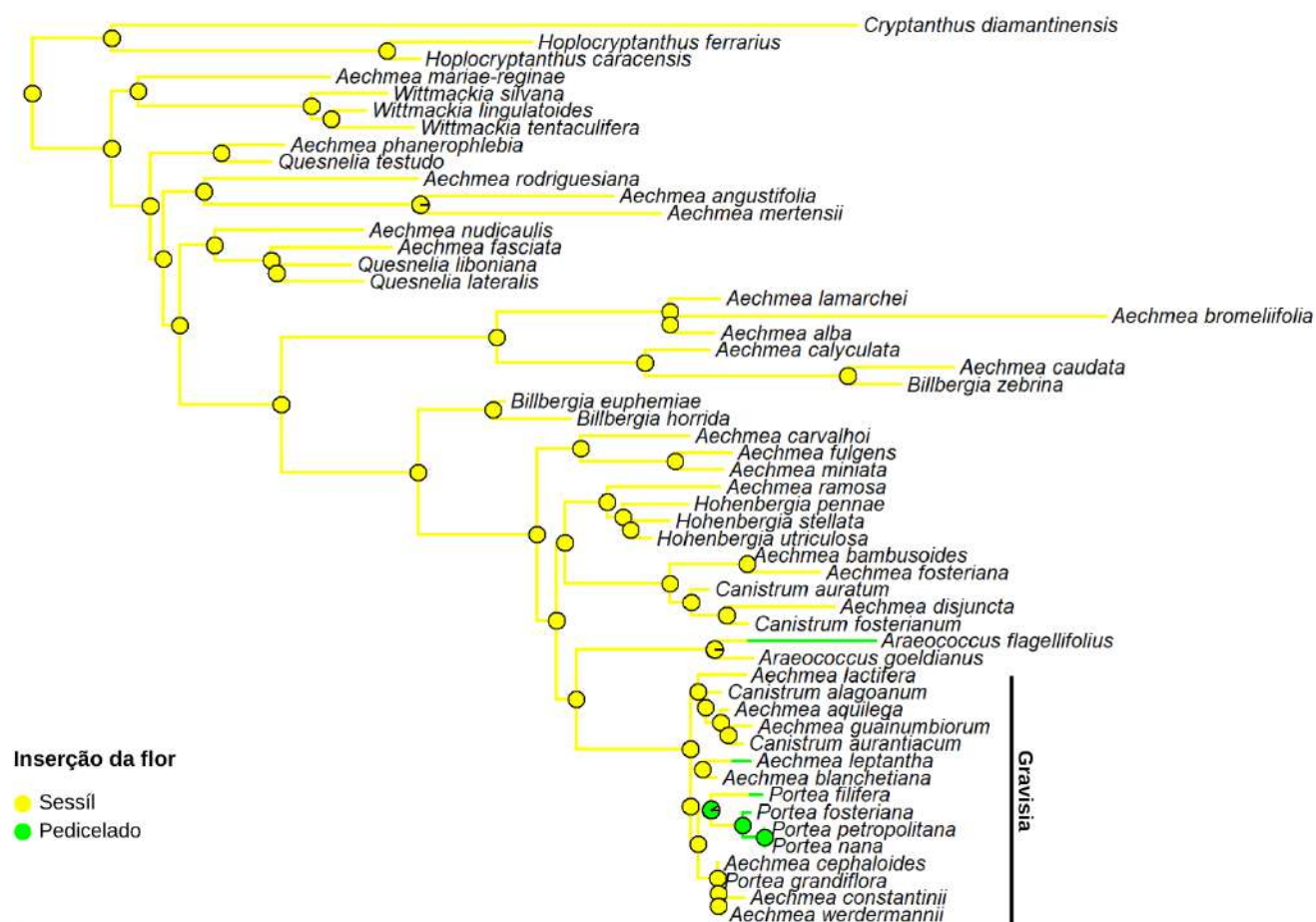


Figura 6. Reconstrução de caracteres ancestrais para caracteres florais (inserção da flor), mapeados na reconstrução filogenética de MV baseada em dados nucleares. Os diagramas de pizza nos indicam a probabilidade de ancestralidade do tipo de inserção da flor sob máxima verossimilhança.

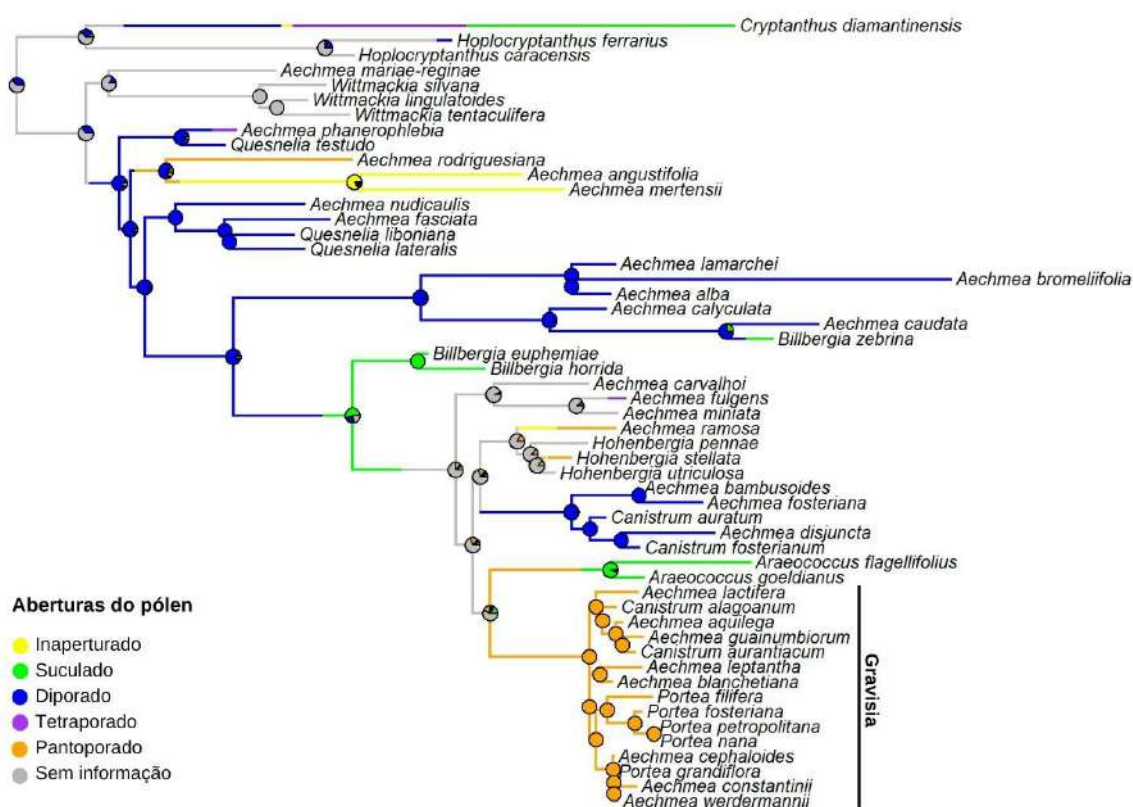


Figura 7. Reconstrução de caracteres ancestrais para caracteres polínicos (quantidade de aberturas no pólen), mapeados na reconstrução filogenética de MV baseada em dados nucleares. Os diagramas de pizza nos nós indicam a probabilidade de ancestralidade da quantidade de poros no pólen sob máxima verossimilhança.

Discussão

Nossa pesquisa oferece um suporte estatístico mais robusto para o clado Gravisia (PP 1, BS 97) do que a reconstrução proposta por Heller et al., (2015) (PP 0.87). Na hipótese de Heller (2015), o clado é composto por 32 espécies, divididas em quatro clados distintos com base na distribuição geográfica, todas distribuídas na região nordeste da Mata Atlântica, dividida em clados de espécies que ocorrem ao Norte e Sul do Rio São Francisco. Embora a nossa amostragem seja reduzida em comparação a de Heller (2015), todas as espécies incluídas no clado Gravisia são corroboradas pela nossa filogenia, que consiste em 15 espécies abrangendo toda a variabilidade morfológica e amplitude geográfica.

Devido à limitada amostragem de espécies pertencentes ao Complexo Gravisia na região sul do Rio São Francisco, não conseguimos observar se as espécies que ocorrem nessa região formam um clado. Outro aspecto relacionado à amostragem é que várias espécies descritas para o complexo Gravisia são cultivadas e morfologicamente muito semelhantes. A ausência de uma circunscrição taxonômica clara e atualizada gera confusão na identificação e distinção entre as espécies (Maciel et al., 2015; Silva et al., 2018). Além disso, muitas espécies apresentam alto grau de polimorfismo, como *A. aquilega*, que possui mais de 30 sinônimos, agravando as dificuldades na descrição das espécies (Siqueira-Filho e Leme, 2007). O número de espécies atualmente circunscritas para o complexo Gravisia possivelmente é superestimado.

As espécies do gênero *Portea* formam um clado irmão organizado geograficamente, distribuídas na Floresta Atlântica ao Sul do Rio São Francisco, exceto pela espécie *P. grandiflora*, que surge relacionada a outras espécies de Gravisia. Esse resultado pode ser atribuído à matriz de dados incompleta para a espécie; no entanto, devido à baixa resolução filogenética, não podemos avaliar a relação filogenética entre os clados dentro de Gravisia.

A relação filogenética entre as espécies do Complexo Gravisia e o gênero *Portea* já havia sido evidenciada em outras filogenias, como Faria et al. (2004), Horres et al. (2007), Sass e Specht (2010) e na recente filogenômica de Bratzel et al. (2022). Em todas as hipóteses filogenéticas, *Portea* forma consistentemente um clado irmão do Complexo Gravisia.

Outras espécies que não foram previamente catalogadas como pertencentes ao Complexo Gravisia ou ao gênero *Portea* incluem *Aechmea marauensis*, a qual é identificada na filogenia de Sass e Specht (2010) e na filogenia de Heller et al. (2015), formando um clado com *A. bahiana* e as demais espécies de *Portea*. Embora essas duas espécies não tenham sido abrangidas em nossa análise, como apresentado nos trabalhos de Sass e Specht (2010) e Heller et al. (2015) dados morfológicos e geográficos sustentam a associação dessas espécies com as *Porteas*.

Na filogenia de Maciel et al. (2018) a espécie amazônica *Aechmea rodriguesiana*, anteriormente incluída no gênero *Gravisia* descrito por Mez, aparece relacionado às espécies *A. leptantha*, *C. aurantiacum* e *P. fosteriana*. Nossos resultados sugerem que a espécie está relacionada a outras espécies de *Aechmea* que ocorrem na região da Amazônia sendo estas *A. angustifolia* e *A. mertensii*.

A formação de clados geográficos é evidenciada ao longo de toda nossa filogenia, assim como é observada em outras filogenias dentro de Bromelioideae como em Schulte et al. (2009), Sass e Specht (2010), Louzada et al. (2014). Isso se deve a rápida diversificação do grupo, que está associada a colonização de novos ambientes e então posteriormente diversificação de caracteres morfológicos que em *Aechmea* como de acordo com Sass e Specht (2010) muitas vezes estão relacionados ao conservadorismo de nicho. Os mesmos autores sugerem a validade de caracteres taxonômicos quando associados a distribuição geográfica.

A ausência de uma revisão taxonômica abrangente para o gênero *Aechmea* entre outros gêneros pertencentes às bromelioideae nucleares, dificulta a delimitação de caracteres e estados de caracteres úteis para o grupo.

Em nossa filogenia acrescentamos uma reconstrução de caracteres em relação com o trabalho de Heller et al (2015) onde apresenta apenas a distribuição de caracteres morfológicos e geográficos em sua filogenia. Utilizamos um método de máxima verossimilhança para calcular as probabilidades associadas a cada estado possível de um nó ancestral para determinar o mais provável (Pagel, 1999). Os métodos de reconstrução de caracteres são essenciais quando se deseja testar hipóteses evolutivas, como homoplasias, processos de seleção etc. (Alegria et al., 2016).

Utilizamos os mesmos caracteres morfológicos apresentados por Heller et al. (2015) com a adição do tipo de inserção da flor, não utilizamos os caracteres ecológicos do habitat. Nossa reconstrução de caracteres mostra que o pólen pantoporado surgiu uma única vez dentro das Bromelioideae centrais, o mesmo foi corroborado no estudo de Heller (2015) sendo uma sinapomorfia para toda a linhagem de *Gravisia*.

Na filogenia de Sass e Specht (2010) foi sugerido que *Portea* poderia abrigar as demais espécies: *A. aquilega* e *C. aurantiacum*, relacionadas geograficamente e filogeneticamente sob a sinapomorfia do pólen pantoporado. Discordamos dessa proposta, pois *Portea* é uma linhagem divergente do Complexo *Gravisia* corroborada por outros caracteres morfológicos como presença de pedicelo, pétalas e sépalas de coloração rosa/lilás ou roxa além de compartilharem a distribuição geográfica como apresentado em nossos resultados. A combinação de espécies com pólen pantoporado em *Portea*, também foi sugerida por Böhme (1988) que encontrou semelhanças nos nectários florais de *C. aurantiacum*, *A. rubens*, *A. eurycorymbus* e uma espécie de *Portea*.

Na filogenia de Horres et al., (2007) encontrou similaridade na anatomia foliar sendo esta classificada do tipo III, as espécies apresentadas em sua filogenia foram: *P. leptantha*, *A. eurycorymbus*, *A. rubens*, *A. aquilega*, onde *A. leptantha* era até então ainda incluída no gênero *Portea* e aparece como irmã das demais espécies do complexo Gravisia.

Nossos resultados corroboram filogeneticamente com as suposições iniciais de Mez em relação aos caracteres utilizados para separar *Portea* das demais *Gravias* e a validade do caractere polínico.

Embora os caracteres de cor da pétala e sépala e inserção da flor isolados sejam homoplasicos, o conjunto dos caracteres quando associados a distribuições geográficas são válidos para separar as espécies do complexo gravisia

Conclusões

O complexo Gravisia é uma linhagem com clados distintos, abrangendo táxons dos gêneros *Aechmea*, *Portea* e *Canistrum*. Os principais caracteres utilizados para diagnosticar o complexo, embora homoplásicos, refletem estados ancestrais dessa linhagem. Revisões taxonômicas mais abrangentes são necessárias para encontrar caracteres mais úteis na descrição do grupo e na diferenciação e validação de espécies morfologicamente mais próximas. Sua história biogeográfica parece ter influenciado fortemente a diversificação do grupo, tendo como principal barreira geográfica o Rio São Francisco. Estudos moleculares mais aprofundados utilizando dados genômicos podem revelar fatores importantes na história do clado, como hibridização e evolução reticulada. Os conceitos genéricos utilizados em Bromelioideae devem passar por uma revisão atualizada.

Agradecimentos

Nós gostaríamos de expressar nossa sincera gratidão à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo financiamento do projeto e pela bolsa concedida. Agradecemos também ao Laboratório de Morfo-Taxonomia e Evolução Vegetal (MTEV) e ao Laboratório de Biologia Molecular (BioMol) pelo suporte e pela infraestrutura fornecidos para a execução do trabalho. Estendemos nossos agradecimentos ao Prof. Dr. Gustavo Souza pela valiosa ajuda nas análises filogenéticas e pelas sugestões oferecidas.

Referências

- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., & Posada, D. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and high-performance computing. *Nature methods*, 9(8), 772.
- Evans, T. M., Jabaily, R. S., de Faria, A. P. G., de Sousa, L. D. O. F., Wendt, T., & Brown, G. K. (2015). Phylogenetic relationships in Bromeliaceae subfamily Bromelioideae based on chloroplast DNA sequence data. *Systematic Botany*, 40(1), 116-128.
- Faria, A. P. G., Wendt, T., & Brown, G. K. (2004). Cladistic relationships of *Aechmea* (Bromeliaceae, Bromelioideae) and allied genera. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 303-319.
- Ferreira, M. E., & Grattapaglia, D. (1995). Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética. Brasília: Embrapa-cenargen.
- Givnish, T. J., Barfuss, M. H., Van Ee, B., Riina, R., Schulte, K., Horres, R., ... & Sytsma, K. J. (2011). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American journal of botany*, 98(5), 872-895.
- Heller, S., Leme, E., Schulte, K., Benko-Iseppon, A. M., & Zizka, G. (2015). Elucidating phylogenetic relationships in the *Aechmea* alliance: AFLP analysis of *Portea* and the *Gravisia* complex (Bromeliaceae, Bromelioideae). *Systematic Botany*, 40(3), 716-725.
- Horres, R., Schulte, K., Weising, K., & Zizka, G. (2007). Systematics of Bromelioideae (Bromeliaceae)—evidence from molecular and anatomical studies. *Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany*, 23(1), 27-43.
- Karp A., Seberg O., Buiatti M.. 1996. Molecular techniques in the assessment of botanical diversity. *Ann. Bot.Lond.* 78:143–149.
- Louzada, R. B., Schulte, K., Maria das Graças, L. W., Silvestro, D., Zizka, G., Barfuss, M. H., & Palma-Silva, C. (2014). Molecular phylogeny of the Brazilian endemic genus *Orthophytum* (Bromelioideae, Bromeliaceae) and its implications on morphological character evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 77, 54-64.
- Maciel, J. R., Louzada, R. B., Benko-Iseppon, A. M., Zizka, G., & Alves, M. (2018). Polyphyly and morphological convergence in Atlantic Forest species of *Aechmea* subgenus *Chevaliera* (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 188(3), 281-295.
- Pagel, M. (1999). The maximum likelihood approach to reconstructing ancestral character states of discrete characters on phylogenies. *Systematic biology*, 48(3), 612-622.
- Patwardhan, A., Ray, S., & Roy, A. (2014). Molecular markers in phylogenetic studies-a review. *Journal of Phylogenetics & Evolutionary Biology*, 2(2), 131.

- Paradis, E., Claude, J., & Strimmer, K. (2004). APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics*, 20(2), 289-290.
- Mechanda S. M., Baum B. R., Johnson D. A., Arnason J. T.. 2004. Sequence assessment of comigrating AFLP bands in Echinacea—implications for comparative biological studies. *Genome* 47:15–25.
- Read, R. W., & Luther, H. E. (1991). The Aechmea/Gravisia complex (Bromeliaceae). *Selbyana*, 54-67.
- Revell LJ (2012) Phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Meth Ecol Evol* 3:217–223. doi:10.1111/j.2041-210X.2011.00169.x
- Sass, C., & Specht, C. D. (2010). Phylogenetic estimation of the core Bromelioids with an emphasis on the genus Aechmea (Bromeliaceae). *Molecular Phylogenetics and evolution*, 55(2), 559-571.
- Silva, T. D. S., Wanderley, M. D. G. L., & Melo, J. I. M. D. (2018). Flora of Paraíba State, Brazil: Aechmea Ruiz & Pav.(Bromeliaceae). *Biota Neotropica*, 18.
- Silvestro, D., Zizka, G., & Schulte, K. (2014). Disentangling the effects of key innovations on the diversification of Bromelioideae (Bromeliaceae). *Evolution*, 68(1), 163-175.
- Schulte, K., Horres, R., & Zizka, G. E. O. R. G. (2005). Molecular phylogeny of Bromelioideae and its implications on biogeography and the evolution of CAM in the family. *Senckenbergiana biologica*, 85, 1-13.
- Schulte, K., Barfuss, M. H., & Zizka, G. (2009). Phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) inferred from nuclear and plastid DNA loci reveals the evolution of the tank habit within the subfamily. *Molecular phylogenetics and evolution*, 51(2), 327-339.
- Siqueira Filho, J. A., Santos, A. M., Leme, E. M., & Cabral, J. S. (2006). Atlantic forest fragments and bromeliads in Pernambuco and Alagoas: distribution, composition, richness and conservation. *Fragmentos de mata atlântica do nordeste, biodiversidade, conservação e suas bromélias*. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio, 101-131.
- Smith, L. B. and R. J. Downs. 1979. Bromelioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica Monograph* 4: 1493–2142. New York: The New York Botanical Garden.
- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*, 30(9), 1312-1313.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular biology and evolution*, 38(7), 3022-3027.

4 PERNAMBUCO ENDEMISM CENTER: A VITAL REFUGE FOR THE DIVERSITY, RICHNESS AND DISTRIBUTION OF BROMELIADS

Amanda B. Silva¹

Joilson V. Alvez¹

Rafael B. Louzada¹

¹ Laboratório de Morfo-Taxonomia e Evolução Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco

*Artigo a ser submetido na Plant Ecology and Diversity

Abstract

Bromeliads constitute one of the primary botanical families diversifying in the Neotropics. They play a crucial ecological role in the structuring of various ecosystems and represent the second-largest group in terms of epiphytic species in the Atlantic Forest. The *Portea*/*Gravisia* clade comprises three distinct genera, predominantly distributed in the northeastern region of the Atlantic Forest. It is known that this phytogeographic domain exhibits a non-homogeneous distribution pattern and high levels of endemism, facing constant threats to its biodiversity due to fragmentation processes. Our objective was to elucidate the distribution patterns of the *Portea*/*Gravisia* clade, identify key endemic areas, assess species richness and diversity, as well as analyze floristic similarity among occurrence areas. Additionally, we aimed to pinpoint priority areas for the conservation of this group. To achieve this, we utilized geographic data from major databases and conducted analyses of distribution, richness, diversity, floristic similarity, and a parsimony analysis of endemism. Our results indicate two primary distribution patterns, delimited by the São Francisco River. The Pernambuco Endemism Center stood out as the area with the highest occurrence of species, diversity, and species richness within the clade, also being one of the priority areas for conservation. Furthermore, we identified four endemic regions. We hypothesize that Pleistocene events may have influenced the diversification of clade species.

Keywords: *Aechmea*, Atlantic forest, Endemism, Neotropic

1 Introduction

Biodiversity exhibits heterogeneous distribution patterns worldwide, showing variations among different geographic regions, ecosystems, and taxonomic groups. Notably, it has been discovered that tropical regions harbor significantly higher levels of biodiversity compared to other areas (Willig et al., 2003).

Bromeliads are a group of plants primarily distributed in the Neotropics, with the exception of one species occurring in West Africa, which colonized the region through long-distance dispersal. They are a key example of adaptive radiation in the Neotropics. The family originated in the Guiana Shield and later colonized the Brazilian coast in a centripetal manner through multiple independent colonization events (Givinish et al., 2007; 2011). Thriving in a variety of environments, from inselbergs and arid areas to tropical forests, the evolutionary development of key characteristics that enhance resilience to environmental stressors has

facilitated the successful colonization of bromeliads in various phytogeographic and environmental domains (Givinish et al., 2007; 2011; 2014; Males & Griffiths, 2017).

Bromelioideae is the second-largest subfamily in terms of species diversity (Schulte et al., 2005). This subfamily consists of two main lineages: one comprising ancient species that do not form tanks and another consisting of a recently diversified clade, primarily distributed in the Atlantic Forest, of tank-forming bromeliads and epiphytic development, housing the majority of the subfamily's species, known as nuclear bromeliads or Corebromelioideae (Schulte et al., 2005; Silvestro et al., 2014).

Within the lineage of Core bromelioideae lies the clade *Portea/Gravisia*, predominantly distributed in the Atlantic Forest of the northeastern region. The clade comprises 29 species from three genera: *Aechmea*, *Portea*, and *Canistrum*. These species are characterized by polyporate pollen and large paniculate inflorescences, occurring from inselbergs to humid forests (Heller et al., 2015, Silva & Louzada in press) (fig. 1).

The Atlantic Forest is the second-largest forest block in the Neotropical region, stretching along the Atlantic coast. This domain is not uniform and exhibits significant environmental variation, leading to the identification of sub-regions or centers of endemism for its species distribution patterns.

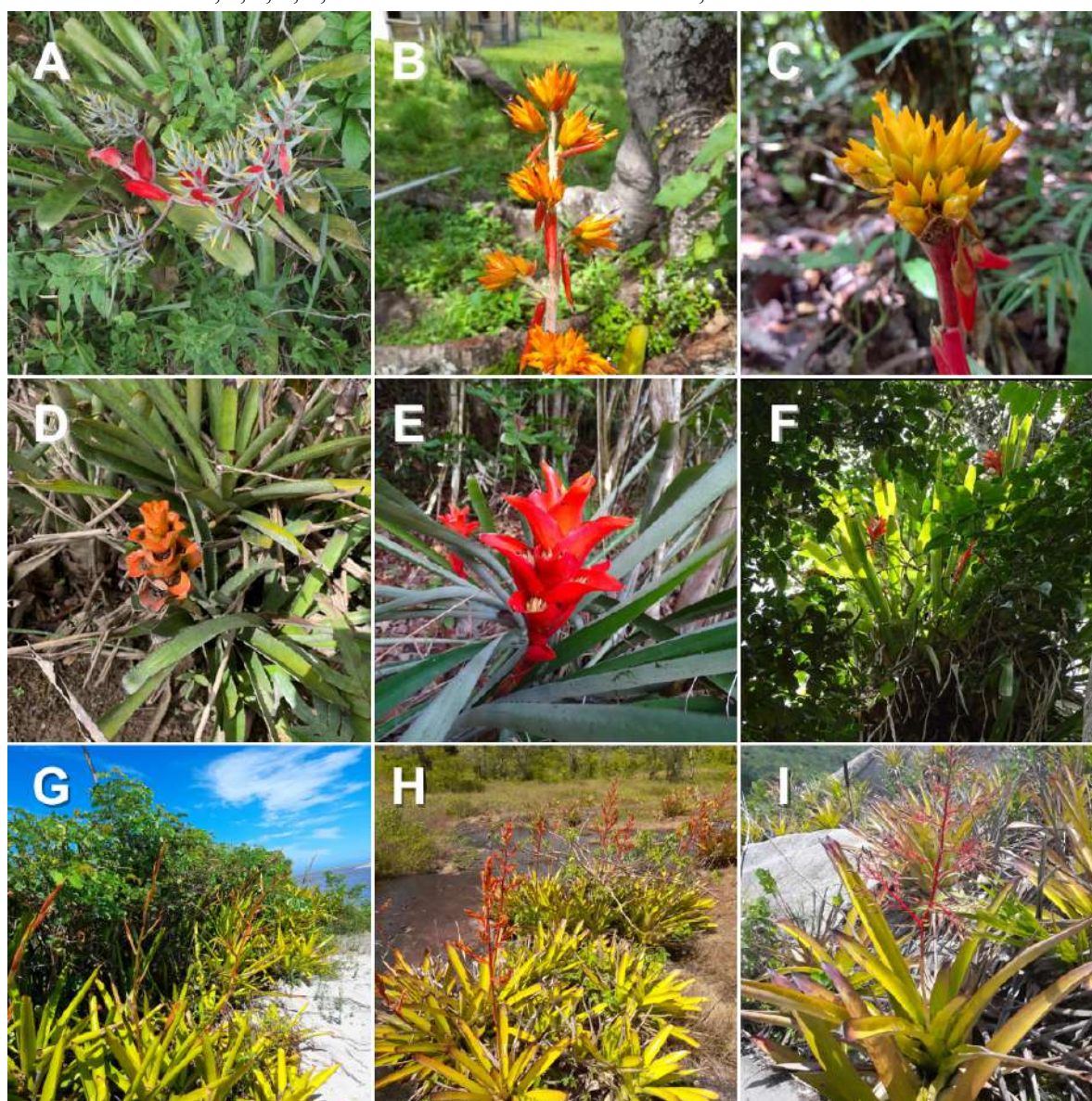
As one of the recognized 25 "biodiversity hotspots," the Atlantic Forest has experienced a staggering reduction of over 90% of its original extent, leaving only fragmented forest remnants (Myers et al., 2000). Merely 9% of the remaining Atlantic Forest is protected within natural reserves (Ribeiro et al., 2009). Given the vast expanse of the Atlantic Forest, conservation efforts entail high costs, and the identification of species distribution and remaining habitats is a crucial strategy for designating key areas for conservation (Harris et al., 2005).

Bromeliads constitute the second-largest group of epiphytes in the Atlantic Forest and play a significant role in the structure of various ecosystems, providing a range of ecosystem services such as biodiversity maintenance, community structure, nutrient cycling, and the supply of food and water. However, many species have been negatively affected by the process of fragmentation and habitat loss, with numerous species currently listed in the Red Book of Brazilian Flora (Ladino et al., 2019).

Considering this scenario and the ecologically significant role that the Bromeliaceae family plays in this ecosystem, this study aimed to: 1) elucidate the distribution patterns of the

Portea/Gravisia clade, 2) identify key endemic areas, species richness, and diversity, and assess floristic similarity among occurrence areas, and 3) identify priority areas for the conservation of this group.

Figure 1: Representatives of Clade Portea/Gravisia and substrates/habitats; (A) *A. constantinii* (Mez) L.B. Sm; (B) *A. aquilega* (Salisb.) Griseb; (C) *A. lactifera* Leme & J.A. Siqueira; (D) *C. pickelii* (Andrade-Lima & L.B. Sm.) Leme & J.A. Siqueira; (E) *C. alagoanum* Leme & J.A. Siqueira, Pernambuco; (F) Paripueira, Alagoas, Brazil; (G) Restinga in Una, Bahia, Brazil.; (H) Maraial, Pernambuco, Brazil; (I) Inselbergs in Serra Negra Ecological Park, Bezerros, Brazil. Photos by: A.B. Silva - A;B;C;G;H;I. I. Paiva - D;E. R.B. Louzada - F.



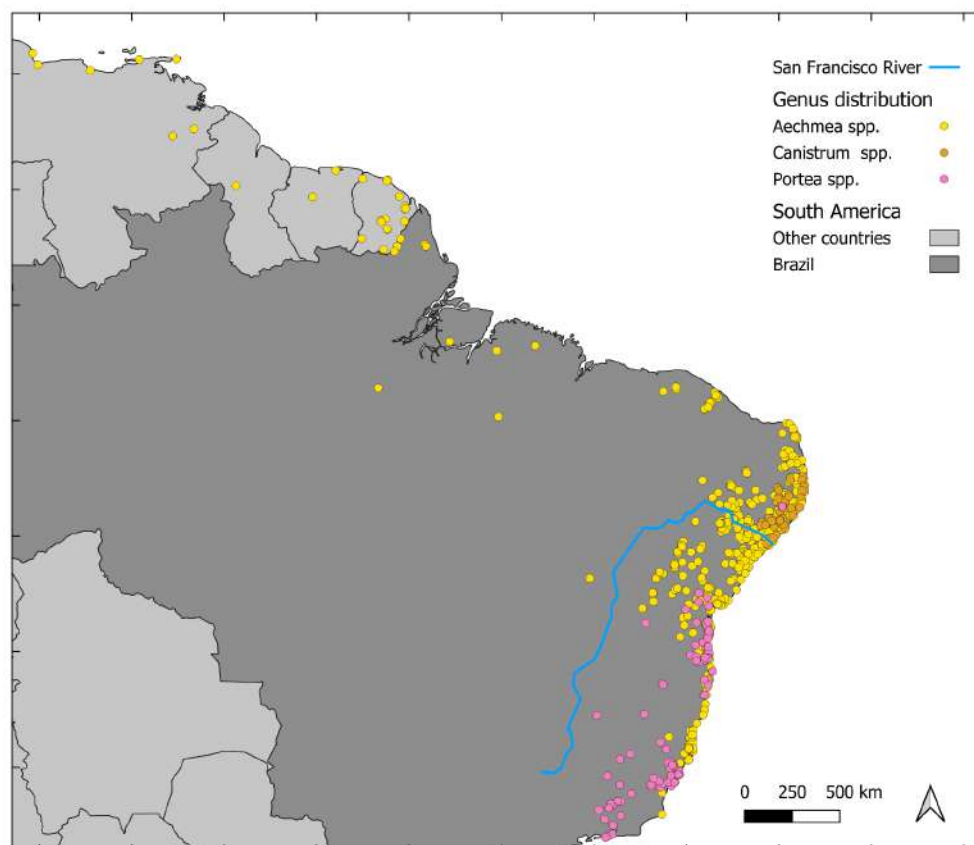
2 Material and Methods

2.1 Taxa and Database

We compiled occurrence records of the *Gravisia* group from two databases: speciesLink (<https://specieslink.net/>) and GBIF (<https://www.gbif.org/>). Data cleaning was conducted based on the following criteria: 1) Duplicate samples were eliminated by cross-checking the collector number, 2) samples lacking a herbarium identification code, 3) records of cultivated plants or those located far from the natural range (outliers), 4) samples with questionable taxonomic identification, and 5) records lacking geographic coordinates or having coordinates outside the designated area. However, if detailed location information was available on the collection form, the records were manually adjusted using Google Earth (<https://www.google.com.br/earth/>).

The species included in this study consist solely of wild species described in the phylogenies Heller et al., (2015) and Silva & Louzada (cap 1)

Figure 2: General distribution of the *Portea/Gravisia* clade in the Neotropics.



2.2 Distribution pattern

Distribution maps were generated using QGIS 3.14 software. The patterns were categorized based on the distribution between federative and territorial units for species occurring outside Brazil. We also used the Biogeographical regionalization of Morrone (2014), in order to standardize the regions of occurrence of the species. Additionally, the recognized areas of endemism are consensual according to the analyzes carried out in this work.

2.3 Biogeographical analyzes

Diversity analysis and richness estimation were conducted using the Diva-Gis software (Hijmans et al. 2004), employing 1° x 1° grids. The statistical methods employed included the Shannon index for diversity and the Jackknife 2 model for richness estimation.

Floristic similarity analysis was performed using the Jaccard distance in RStudio, utilizing the abundance table. An abundance and presence-absence table was constructed using occurrence data with 1° x 1° grids.

The Parsimony Analysis of Endemicity (PAE) was carried out in WinClad software with the Nona algorithm with the following parameters: 10,000 maximum trees to keep, 1,000 replications, 10 starting trees per replication, and a search strategy consisting of multiple TBR + TBR. The presence-absence table was used for this analysis.

3 Results

3.1 Distribution patterns

Our sample comprises 1,076 records, with the species having the highest number of records being *A. aquilega*, totaling 332 entries, while the species with the lowest sampling was *A. amicum*, recorded only once in its type locality. The lineage *Portea/Gravisia* is primarily distributed in the Atlantic Forest Province, with 28 species occurring in this region, of which 13 are endemic to this province. The Caatinga Province ranked as the second region with the highest number of species occurrences, with 11 taxa present, albeit without any endemics (Table 1).

The units with the highest number of species occurrences are Pernambuco (PE), Bahia (BA), and Alagoas (AL). The São Francisco River proves to be one of the main geographic barriers influencing the distribution pattern found in the species, with 13 species occurring solely in the northern portion of the river and 13 species occurring exclusively in the southern portion (Figure 3).

According to taxonomic classification, species of the genus *Canistrum* and the majority of *Aechmea* species are restricted to the northern portion of the São Francisco River, while species of the genus *Portea* are distributed in the southern portion. The species *A. lanjouwii* is the only one restricted to the Guiana Highlands, and *A. emmerichii* has a disjointed distribution. Only *A. aquilega* exhibits a broad distribution, not being restricted to any province or region delimited by a geographic barrier.

Figure 3: Examples patterns of distribution of *Portea*/Gravisia group. A) Species distributed south of the São Francisco River B) Species distribution north of the São Francisco river..

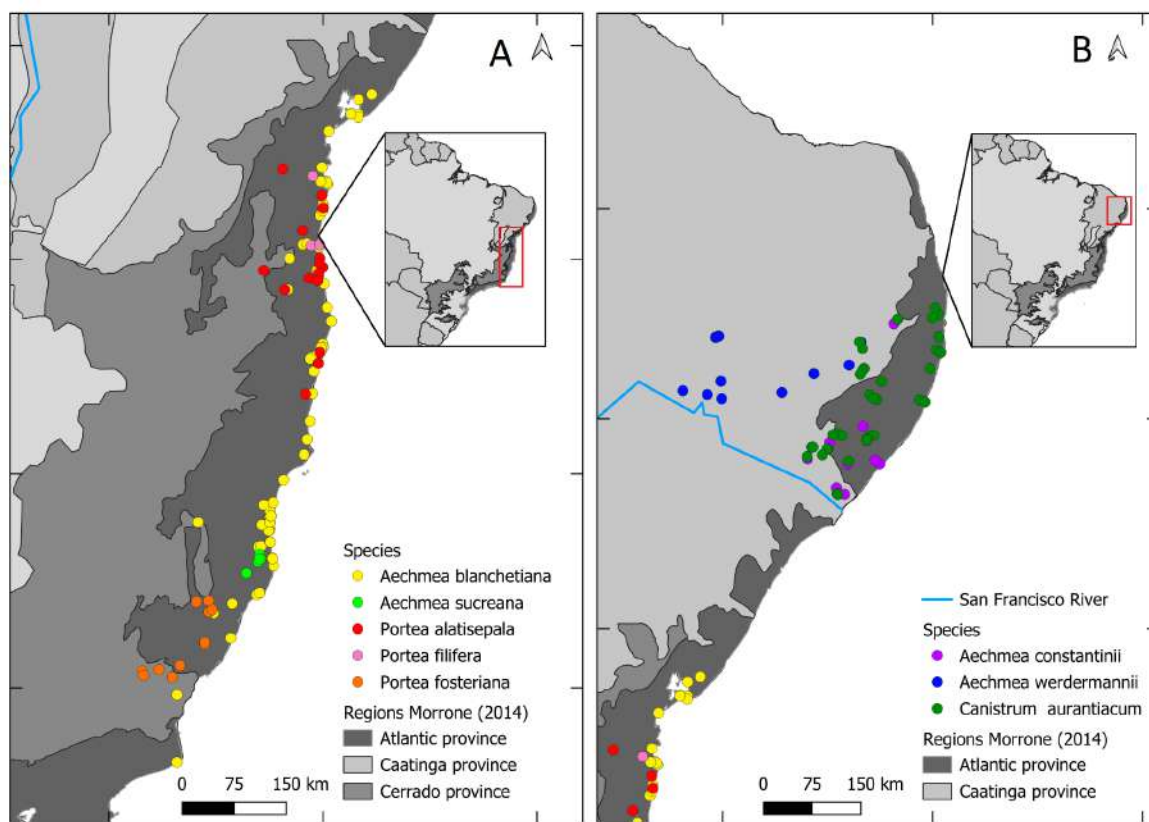


Table 1: Summary of the distribution of Gravisia Group; Acronyms for the Brazilian federal units (states): AL: Alagoas; AP: Amapá; BA: Bahia; CE: Ceará; ES: Espírito Santos; PB: Paraíba; PE: Pernambuco; SE: Sergipe; RN; Rio Grande do Norte.

Species	Distribution	Province (Morrone, 2014)	Area of endemism
<i>A. amicorum</i>	Brazil: BA.	Atlantic Province.	Center endemism of Bahia

<i>A. aquilega</i>	Venezuela; Guyana Guiana; French Guiana; 0Brazil: PA, CE, RN, PB, PE, AL, SE, BA.	Atlantic province, Caatinga Province, Chapada da Diamantina province, Para province, Roraima province, Guianan lowlands province, Guianan province, Venezuelan province .	Wide distribution
<i>A. blanchetiana</i>	Brazil: BA, ES, RJ.	Atlantic province.	Center endemism of Bahia
<i>A. catendensis</i>	Brazil: PE, AL.	Atlantic province	Pernambuco endemism center (AREA 2)
<i>A. cephaloides</i>	Brazil: PE	Atlantic province, Caatinga province	Pernambuco endemism center(AREA 2)
<i>A. chrysocoma</i>	Brazil: PE, AL	Atlantic province	Pernambuco endemism center (AREA 2)
<i>A. constantinii</i>	Brazil: PE, AL.	Atlantic province, Caatinga province.	Pernambuco endemism center (AREA 2)
<i>A. discordiae</i>	Brazil: BA.	Atlantic province.	Center endemism of Bahia
<i>A. emmerichii</i>	Brazil: BA, PB.	Atlantic province, Caatinga province.	Disjoint distribution
<i>A. eurycorymbus</i>	Brazil: PE, AL.	Atlantic province, Caatinga province.	Pernambuco endemism center (AREA 1)
<i>A. fraudulosa</i>	Brazil: BA, ES	Atlantic province	Center endemism of Bahia

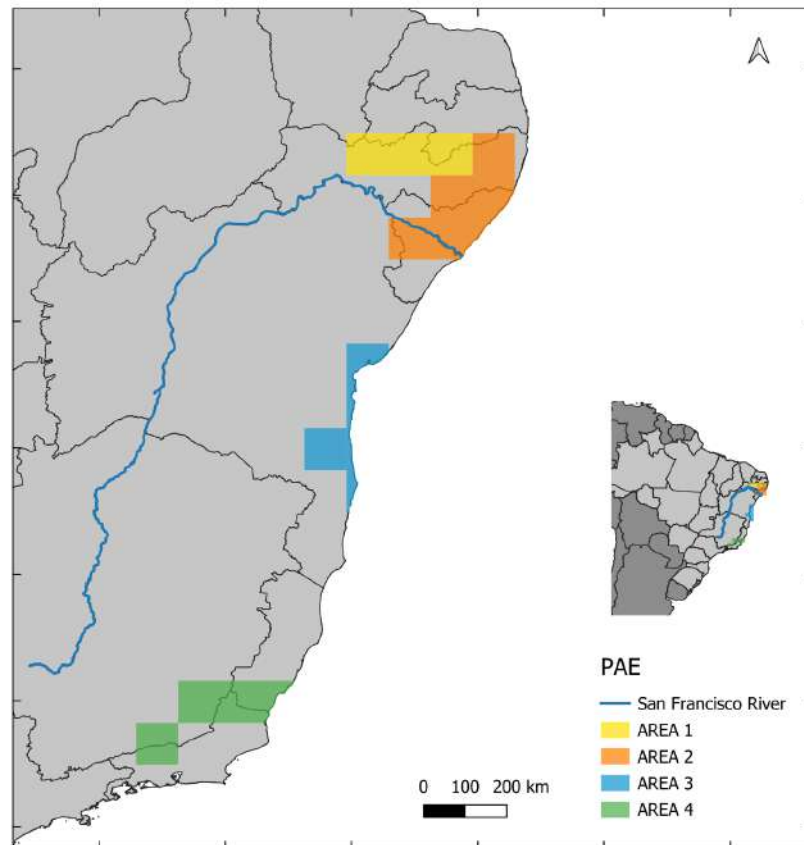
<i>A. guainumbiorum</i>	Brazil: PE.	Atlantic province	Pernambuco endemism center (AREA 1)
<i>A. lactifera</i>	Brazil: PE, AL.	Atlantic province	Pernambuco endemism center (AREA 2)
<i>A. lanjouwii</i>	Suriname, French Guiana, Brazil: AP.	Guianan lowlands province	Guiana plateau
<i>A.leptantha</i>	Brazil: PB, PE, AL	Atlantic province, Caatinga province.	Pernambuco endemism center
<i>A. sucreana</i>	Brazil: ES.	Atlantic province	Center endemism of Bahia
<i>A. tomentosa</i>	Brazil: PE, AL.	Atlantic province, Caatinga province	Pernambuco endemism center (AREA 2)
<i>A. werdermannii</i>	Brazil: PE.	Atlantic province, Caatinga province.	Pernambuco endemism center (AREA 1)
<i>C. aurantiacum</i>	Brazil: AL, PB, PE.	Atlantic province, Caatinga province	Pernambuco endemism center (AREA 2)
<i>C. alagoanum</i>	Brazil: AL, PE.	Atlantic province, Caatinga province	Pernambuco endemism center (AREA 2)
<i>C. pickelii</i>	Brazil: AL, PE.	Atlantic province, Caatinga province	Pernambuco endemism center (AREA 2)
<i>P. alatisepala</i>	Brazil:BA	Atlantic province	Center endemism of Bahia
<i>P. filifera</i>	Brazil:BA	Atlantic province	Center endemism of Bahia

<i>P. fosteriana</i>	Brazil:ES	Atlantic province	Center endemism of Bahia
<i>P. grandiflora</i>	Brazil:BA	Atlantic province, Parana forest province	Center endemism of Bahia
<i>P. kermesina</i>	Brazil:BA	Atlantic province, Parana forest province	Center endemism of Bahia
<i>P. nana</i>	Brazil:BA	Atlantic province	Center endemism of Bahia
<i>P. petropolitana</i>	Brazil:BA, MG, ES, RJ	Atlantic province, Parana forest province	Center endemism of Bahia
<i>P. silveirae</i>	Brazil:BA, ES, MG	Atlantic province, Parana forest province	Center endemism of Bahia

3.2 Parsimony of Endemism

According to our analysis, four distinct areas were identified within the PAE. Two areas are located to the north of the São Francisco River: AREA 1, restricted to marshes, and AREA 2, in the lowland várzea forests. AREA 3 encompasses the state of Bahia, while AREA 4 extends from the southern part of Espírito Santo to the northern region of Rio de Janeiro (Figure 4).

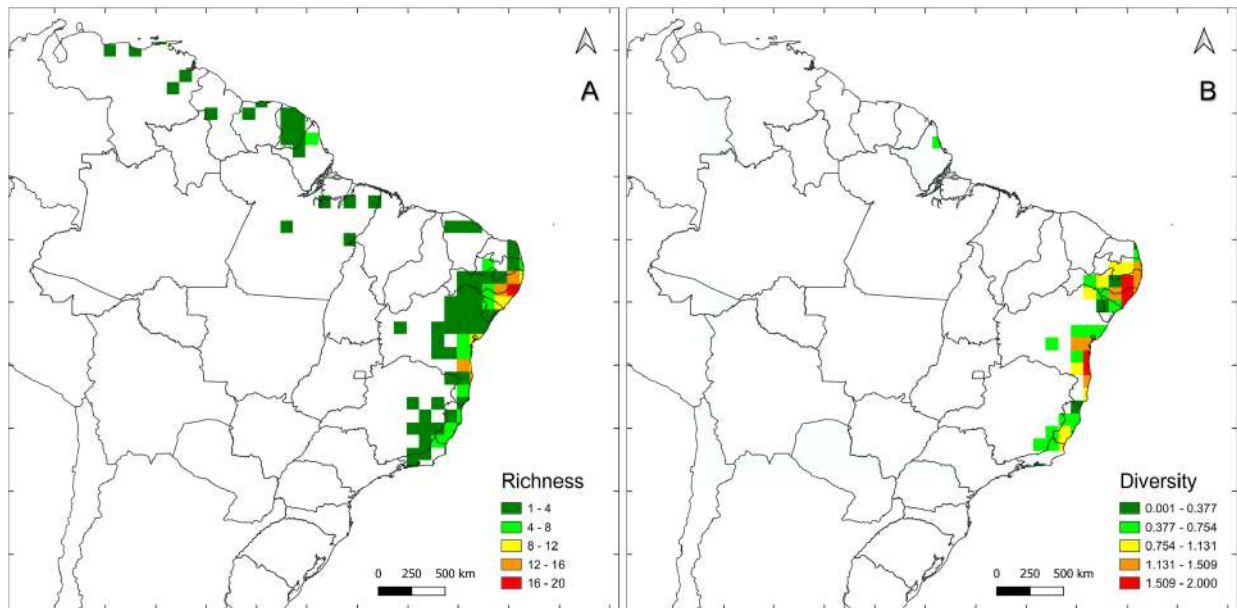
Figure 4: Endemism patterns found in statistical analysis. The parsimony of endemism highlighted four areas of endemism. AREA 1) Swamps in the center of endemism of Pernambuco; AREA 2) Floodplain forest in the center of endemism of Pernambuco; AREA 3) Central endemism in Bahia; AREA 4) Area between Espírito Santos and São Paulo



3.3 Richness, diversity and floristic similarity

The richness analysis revealed the region between Pernambuco and Alagoas with a high richness index, while the Bahia region showed a moderate index. The Shannon diversity index highlighted both regions as diversity centers. Meanwhile, our floristic similarity analysis indicated that the two portions divided by the São Francisco River are distinct units with different floristic compositions (Figure 5).

Figure 5: Graphical representations of richness and diversity analyses. A) Richness analysis B) Diversity analysis.



4 Discussion

4.1 Insights into biogeography

The *Portea/Gravisia* clade is predominantly exhibited an Atlantic distribution, highlighting the region as a significant center of diversity and endemism for the core Bromelioideae, particularly within the genus *Aechmea* (Zizka et al., 2019; Givinish et al., 2011; Schulte et al., 2005). Two distinct distribution patterns were observed within the Atlantic Forest, one in the northern region and the other in the southern region. This dissimilarity, confirmed by analyses of floristic similarity and endemism, reflects a pattern observed in previous studies that recognize the northern and southern portions of the Atlantic Forest as distinct biogeographic units (Sirgrist & Carvalho, 2008; Fiaschi & Pirani, 2008; Sobral-Souza et al., 2015; Thomé et al., 2010; Santos et al., 2007). The Atlantic Forest in the northeastern region shows greater similarity to the Amazon Forest than to the southern region of the Atlantic Forest. The disjunct distribution of *A. aquilega* between the two regions suggests a historical connection through the northeastern coastal region during the climatic fluctuations of the middle and late Holocene (Maciel et al., 2017).

The Atlantic Forest enclaves in the northeastern region also exhibit distinct biogeographical histories. Our PAE results propose the existence of a sub-region in the center of Pernambuco, which is also corroborated by Moura et al. (2017). The discoveries of Moura et al.

(2017) revealed two unique biogeographical regions: one in central Pernambuco and another along the coast. However, it was observed that the enclaves found in Pernambuco were historically linked to the coastal Atlantic Forest, but experienced a recent population bottleneck effect (Silveira et al., 2019). This evidence seems to be associated with the distribution pattern of some species within the *Gravisia* group (for example, *A. guainumbiorum*, *A. werdermannii*, *A. eurycorymbus*), which are confined within the enclaves, while others are concentrated mainly in the coastal region.

Among the two primary areas of endemism identified for the group, our findings indicate the Atlantic Forest region at the north of the São Francisco River as a significant center of endemism, richness, and diversity. The Atlantic Forest of the Northeast, Bahia, and Espírito Santo has previously been recognized as areas of independent endemism. Climate oscillations during the Pliocene-Pleistocene periods are among the key factors contributing to the observed diversity and endemism in the region. These climatic fluctuations played a crucial role in shaping the current biodiversity patterns (Saiter et al., 2016). Forests that exhibited stability during this period of oscillation acted as refuges for numerous species, thereby facilitating diversification and speciation (Connor, 1986).

Molecular and paleoclimate modeling studies have provided insights into the forest refuges along the spatial variation of tropical forests during the Pleistocene and Holocene, highlighting the region of central Pernambuco at the northern of the São Francisco River, the Atlantic Forest of Bahia, and northern Espírito Santo as regions with stable forests in relation to the aforementioned climatic events (Carnaval & Moritz, 2008; Martins, 2011; Junior et al., 2013; Mori & Prance, 1981; Prance, 1982; Francisquini et al., 2020). The Pliocene-Pleistocene climatic events are closely associated with the emergence and diversification of the central clade of Bromelioideae in the Atlantic region (Givinish et al., 2011). Moreover, the formation of geographic clades in *Aechmea* also appears to be linked to events in this period (Sass and Spech, 2010).

4.2 Implications for conservation

The group exhibits a notable degree of endemism, with many species being restricted to specific areas. Endemic species are characterized by their close association with particular regions, as well as factors such as limited geographic distribution, small population sizes, low genetic variability, and reliance on specialized ecological niches. These characteristics render them vulnerable to environmental changes, making the assessment of their conservation status a crucial consideration (Isik, 2011).

Among the species within the group, *A. amicorum* and *A. werdermannii* are already listed as endangered in the Red Book of Flora do Brasil (Martineli & Moraes, 2013). However, the lack of comprehensive data imposes a challenge in evaluating the conservation status of the group as a whole. The ongoing rapid loss of biodiversity further hampers the acquisition of robust data associated with distribution and conservation efforts for recently described taxa, including those within *Gravisia*. Consequently, factors such as the date of description and population size serve as initial indicators of the extinction risks (Roberts et al., 2016).

Bromeliads from the northeastern Atlantic Forest have experienced a decline in population size primarily due to habitat loss, which can be attributed to the historical process of fragmentation that the Northeastern Atlantic Forest has undergone since the colonization of the Brazilian territory, resulting in one of the most fragmented regions of the remaining Atlantic Forest (Ribeiro et al., 2009). The combination of restricted distribution, habitat specificity, and ecological traits has rendered the group highly vulnerable to extinction (Siqueira-Filho & Tabarelli, 2006). Although reserves have been established to protect the remaining fragments, such conservation actions alone are insufficient on maintaining the integrity of complex ecological systems (Tabarelli et al., 1999; Silva & Tabarelli, 2000).

The reduction in habitat area, isolation of fragments, and the edge effect have led to decreased abundance and species richness, as well as the homogenization of communities through the dominance of more generalist taxa. These changes in community composition and ecological processes have significant impacts, including the alteration of various ecological processes (Lobô et al., 2011; Haddad et al., 2015).

Based on our results, we propose that the main center of diversification, richness and endemism of the *Gravisia* group is the Atlantic Forest at the northern of the São Francisco River. The limited distribution of most taxa within the group, combined with the current state of the Atlantic Forest in the region, demonstrates its vulnerability and compromises evolutionary processes. We hope that our results will not only increase understanding of the evolution and distribution of Neotropical groups, but will also help in identifying priority areas for conservation strategies.

Acknowledgment

We would like to express our gratitude for the support provided by the Foundation for the Support of Science and Technology of the State of Pernambuco (FACEP) for the financial assistance. We are also grateful to the Morpho-Taxonomy and Plant Evolution Laboratory

(MTEV) for their infrastructure support. We extend our appreciation to Me. Yuri Rossine for his assistance in English correction, feedback, and discussions.

7 References

- CARDOSO S. J. M., CARDOSO S., M., & CASTELLETTI, C. H. 2004. Areas of endemism for passerine birds in the Atlantic forest, South America. *Global Ecology and Biogeography*, 13(1), 85-92.
- CARNAVAL, A. C., & MORITZ, C. 2008. Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography*, 35(7), 1187-1201.
- CONNOR, E. F. 1986. The role of Pleistocene forest refugia in the evolution and biogeography of tropical biotas. *Trends in ecology & evolution*, 1(6), 165-168.
- FRANCISQUINI, M. I., LORENTE, F. L., PESSENDA, L. C. R., JUNIOR, A. A. B., MAYLE, F. E., COHEN, M. C. L. ET AL.. 2020. Cold and humid Atlantic Rainforest during the last glacial maximum, northern Espírito Santo state, southeastern Brazil. *Quaternary Science Reviews*, 244, 106489.
- FIASCHI, P., & PIRANI, J. R. 2009. Review of plant biogeographic studies in Brazil. *Journal of systematics and evolution*, 47(5), 477-496.
- GIVNISH, T. J., MILLAM, K. C., BERRY, P. E., & SYTSMA, K. J. 2007. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from ndhF sequence data. *Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany*, 23(1), 3-26.
- GIVNISH, T. J., BARFUSS, M. H., VAN EE, B., RIINA, R., SCHULTE, K., HORRES, R., ET AL., 2011. Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American journal of botany*, 98(5), 872-895.
- GIVNISH, T. J., BARFUSS, M. H., VAN EE, B., RIINA, R., SCHULTE, K., HORRES, R., ET AL., 2014. Adaptive radiation, correlated and contingent evolution, and net species diversification in Bromeliaceae. *Molecular phylogenetics and evolution*, 71, 55-78.
- HADDAD, N. M., BRUDVIG, L. A., CLOBERT, J., DAVIES, K. F., GONZALEZ, A., HOLT, R. D., ET AL., 2015. Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science advances*, 1(2), e1500052.
- HARRIS, G. M., JENKINS, C. N., & PIMM, S. L. 2005. Refining biodiversity conservation priorities. *Conservation Biology*, 19(6), 1957-1968P

- HELLER, S., LEME, E., SCHULTE, K., BENKO-ISEPPON, A. M., & ZIZKA, G. 2015. Elucidating phylogenetic relationships in the Aechmea alliance: AFLP analysis of Portea and the Gravisia complex (Bromeliaceae, Bromelioideae). *Systematic Botany*, 40(3), 716-725.
- IŞIK, K. 2011. Rare and endemic species: why are they prone to extinction?. *Turkish Journal of Botany*, 35(4), 411-417.
- JUNIOR, A. A. B., PESSEDA, L. C. R., DE OLIVEIRA, P. E., GIANNINI, P. C. F., COHEN, M. C. L., VOLKMER-RIBEIRO, C., ET AL., 2013. Late Pleistocene and Holocene vegetation, climate dynamics, and Amazonian taxa in the Atlantic Forest, Linhares, SE Brazil. *Radiocarbon*, 55(3), 1747-1762.
- LADINO, G., OSPINA-BAUTISTA, F., ESTÉVEZ VARÓN, J., JERABKOVA, L., & KRATINA, P. 2019. Ecosystem services provided by bromeliad plants: A systematic review. *Ecology and Evolution*, 9(12), 7360-7372.
- LÔBO, D., LEÃO, T., MELO, F. P., SANTOS, A. M., & TABARELLI, M. 2011. Forest fragmentation drives Atlantic forest of northeastern Brazil to biotic homogenization. *Diversity and Distributions*, 17(2), 287-296.
- MALES, J., GRIFFITHS, H. 2017 Functional types in the Bromeliaceae: relationships with drought-resistance traits and bioclimatic distributions. *Functional Ecology*, v. 31, n. 10, p. 1868-1880.
- PAGLIA, A. P. & PINTO, L.P. 2010. Biodiversidade da Mata Atlântica. In: E. Marone, D. Riet, & T. Melo (Orgs.). *Brasil Atlântico - um país com a raiz na mata*. Rio de Janeiro: Instituto BioAtlântica, pp. 102-129.
- PRANCE, G. T. 1982. A review of the phytogeographic evidences for Pleistocene climate changes in the Neotropics. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 594-624.
- MACIEL, J. R., LOUZADA, R., & ALVES, M. 2015. Aechmea Ruiz & Pavón from the northern portion of the Atlantic Forest. *Rodriguésia*, 66, 477-492.
- MACIEL, J. R., SANCHEZ-TAPIA, A., SIQUEIRA, M. F. D., & ALVES, M. 2017. Palaeodistribution of epiphytic bromeliads points to past connections between the Atlantic and Amazon forests. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 183(3), 348-359.
- MARTINELLI, G., & MORAES, M. A. 2013. *Livro vermelho da flora do Brasil*.

- MOURA, M. R., ARGÔLO, A. J., & COSTA, H. C. 2017. Historical and contemporary correlates of snake biogeographical subregions in the Atlantic Forest hotspot. *Journal of Biogeography*, 44(3), 640-650.
- MORI, S. A., & PRANCE, G. T. 1981. The "sapucaia" group of *Lecythis* (Lecythidaceae). *Brittonia*, 70-80.
- MORRONE, J. J. 2014. Cladistic biogeography of the Neotropical region: identifying the main events in the diversification of the terrestrial biota. *Cladistics*, 30(2), 202-214.
- MORRONE, J. J. 2014. Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. *Zootaxa*, 3782(1), 1-110.
- MYERS, N., MITTERMEIER, R. A., MITTERMEIER, C. G., DA FONSECA, G. A., & KENT, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403(6772), 853-858.
- SILVA, J., & CASTELETI, C. 2005. Estado da biodiversidade da Atlantic Forest brasileira. *Atlantic Forest: Biodiversidade, ameaças e perspectivas* (C. Galindo-Leal & IG Câmara, eds.). *Fundação SOS Atlantic Forest, Belo Horizonte*. 472p.
- SASS, C., & SPECHT, C. D. 2010. Phylogenetic estimation of the core Bromelioids with an emphasis on the genus *Aechmea* (Bromeliaceae). *Molecular Phylogenetics and evolution*, 55(2), 559-571.
- SCHULTE, K., HORRES, R., & ZIZKA, G. 2005. Molecular phylogeny of Bromelioideae and its implications on biogeography and the evolution of CAM in the family. *Senckenbergiana biologica*, 85, 1-13.
- SILVA, J. D., & CASTELETI, C.H. M. 2005. Estado da biodiversidade da Mata Atlântica brasileira. *Mata Atlântica: biodiversidade, ameaças e perspectivas*, 1, 43-59.
- SILVA, J. M. C., & TABARELLI, M. 2000. Tree species impoverishment and the future flora of the Atlantic forest of northeast Brazil. *Nature*, 404(6773), 72-74.
- SILVEIRA, M. H. B., MASCARENHAS, R., CARDOSO, D., & BATALHA-FILHO, H. 2019. Pleistocene climatic instability drove the historical distribution of forest islands in the northeastern Brazilian Atlantic Forest. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 527, 67-76.
- SILVESTRO, D., ZIZKA, G., & SCHULTE, K. 2014. Disentangling the effects of key innovations on the diversification of Bromelioideae (Bromeliaceae). *Evolution*, 68(1), 163-175.

- SIQUEIRA FILHO, J. A., SANTOS, A. M., LEME, E. M., & CABRAL, J. S. 2006. Atlantic forest fragments and bromeliads in Pernambuco and Alagoas: distribution, composition, richness and conservation. *Fragmentos de mata atlântica do nordeste, biodiversidade, conservação e suas bromélias*. Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio, 101-131.
- SIQUEIRA FILHO, J. A., & TABARELLI, M. 2006. Bromeliad species of the Atlantic forest of north-east Brazil: losses of critical populations of endemic species. *Oryx*, 40(2), 218-224.
- SOBRAL-SOUZA, T., LIMA-RIBEIRO, M. S., & SOLFERINI, V. N. 2015. Biogeography of Neotropical Rainforests: past connections between Amazon and Atlantic Forest detected by ecological niche modeling. *Evolutionary Ecology*, 29, 643-655.
- READ, R. W., & LUTHER, H. E. 1991. The Aechmea/Gravisia complex (Bromeliaceae). *Selbyana*, 54-67.
- RIBEIRO, M. C., METZGER, J. P., MARTENSEN, A. C., PONZONI, F. J., & HIROTA, M. M. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological conservation*, 142(6), 1141-1153
- ROBERTS, D. L., TAYLOR, L., & JOPPA, L. N. 2016. Threatened or data deficient: assessing the conservation status of poorly known species. *Diversity and Distributions*, 22(5), 558-565.
- TABARELLI, M., MANTOVANI, W., & PERES, C. A. 1999. Effects of habitat fragmentation on plant guild structure in the montane Atlantic forest of southeastern Brazil. *Biological conservation*, 91(2-3), 119-127.
- THOMÉ, M. T. C., ZAMUDIO, K. R., GIOVANELLI, J. G., HADDAD, C. F., BALDISSERA JR, F. A., & ALEXANDRINO, J. 2010. Phylogeography of endemic toads and post-Pliocene persistence of the Brazilian Atlantic Forest. *Molecular phylogenetics and evolution*, 55(3), 1018-1031.
- WILLIG, M. R., KAUFMAN, D. M., & STEVENS, R. D. 2003. Latitudinal gradients of biodiversity: pattern, process, scale, and synthesis. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, 34(1), 273-309.
- ZIZKA, A., AZEVEDO, J., LEME, E., NEVES, B., DA COSTA, A. F., CACERES, D., & ZIZKA, G. 2020. Biogeography and conservation status of the pineapple family (Bromeliaceae). *Diversity and Distributions*, 26(2), 183-195.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Nossos resultados confirmam a hipótese do não monofiletismo e a formação de clados geográficos no Complexo Gravisia.
- As espécies que compõem o Complexo Gravisia compreendem uma linhagem de diversificação recente na porção nordeste da Mata Atlântica composta por três gêneros distintos: *Aechmea*, *Canistrum* e *Portea*.
- O gênero *Portea* é grupo irmão das demais espécies que compõem o Complexo Gravisia.
- O caráter do pólen pantoporado é um estado ancestral dessa linhagem
- Eventos recentes do quaternário influenciaram os padrões de distribuição da linhagem Gravisia.

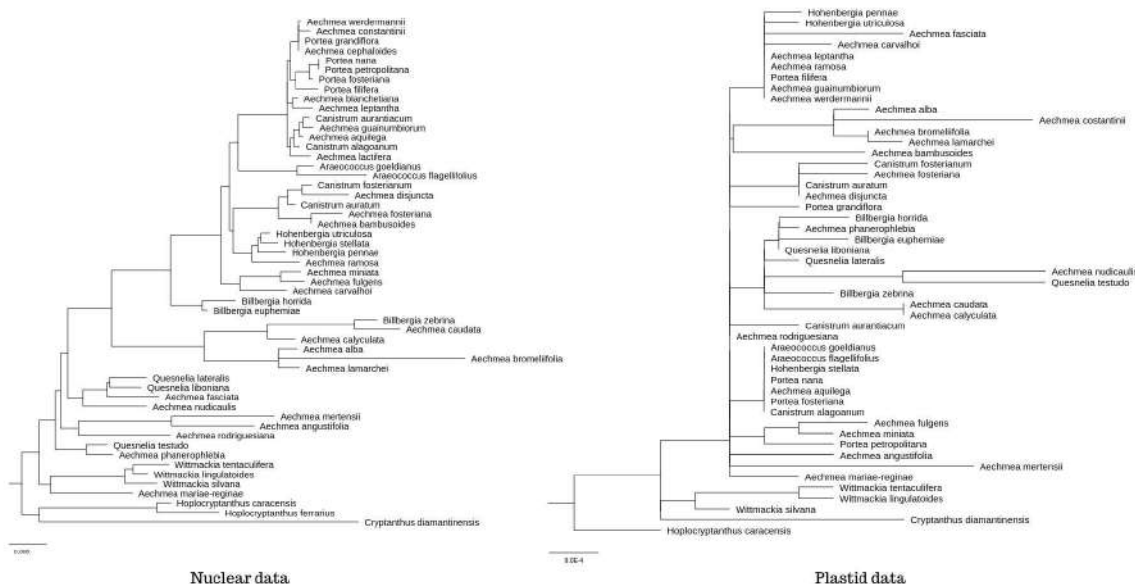
REFERÊNCIAS

- Angiosperm Phylogeny Group, Chase, M. W., Christenhusz, M. J., Fay, M. F., Byng, J. W., Judd, W. S., ... & Stevens, P. F. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), 1-20.
- Benzing, D. H. (2000). *Bromeliaceae: Profile of an adaptive radiation*. Cambridge University Press.
- Bratzel, F., Paule, J., Leebens-Mack, J., Leme, E. M., Forzza, R. C., Koch, M. A., ... & Zizka, G. (2023). Target-enrichment sequencing reveals for the first time a well-resolved phylogeny of the core Bromelioideae (family Bromeliaceae). *TAXON*, 72(1), 47-63.
- Carnaval, A. C., & Moritz, C. (2008). Historical climate modeling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography*, 35(7), 1187-1201.
- Cavalcante, B. P., & Silva, M. F. (2021). *Hohenbergia densa* (Bromeliaceae), a new species from Rio Grande do Norte, Brazil. *Phytotaxa*, 520(2), 203-208.
- Cavalcanti Ferreira, D. M., & Louzada, R. B. (2020). A new species of *Cryptanthus* (Bromeliaceae, Bromelioideae) in the Brazilian Atlantic Forest north of the São Francisco River, and its contribution to the taxonomy of the genus. *Systematic Botany*, 45(3), 460-465.
- Evans, T. M., Jabaily, R. S., de Faria, A. P. G., de Sousa, L. D. O. F., Wendt, T., & Brown, G. K. (2015). Phylogenetic relationships in Bromeliaceae subfamily Bromelioideae based on chloroplast DNA sequence data. *Systematic Botany*, 40(1), 116-128.
- Faria, A. P. G., Wendt, T., & Brown, G. K. (2004). Cladistic relationships of *Aechmea* (Bromeliaceae, Bromelioideae) and allied genera. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 303-319.
- Ferreira, D. M. C., & Louzada, R. B. (2022). Two new species of *Cryptanthus* (Bromelioideae, Bromeliaceae) from the Atlantic Forest of northeastern Brazil. *Phytotaxa*, 571(1), 65-75.
- Givnish, T. J., Barfuss, M. H., Van Ee, B., Riina, R., Schulte, K., Horres, R., ... & Sytsma, K. J. (2011). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: Insights from an eight-locus plastid phylogeny. *American Journal of Botany*, 98(5), 872-895.
- Givnish, T. J., Millam, K. C., Berry, P. E., & Sytsma, K. J. (2007). Phylogeny, adaptive radiation, and historical biogeography of Bromeliaceae inferred from *ndhF* sequence data. *Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany*, 23(1), 3-26.

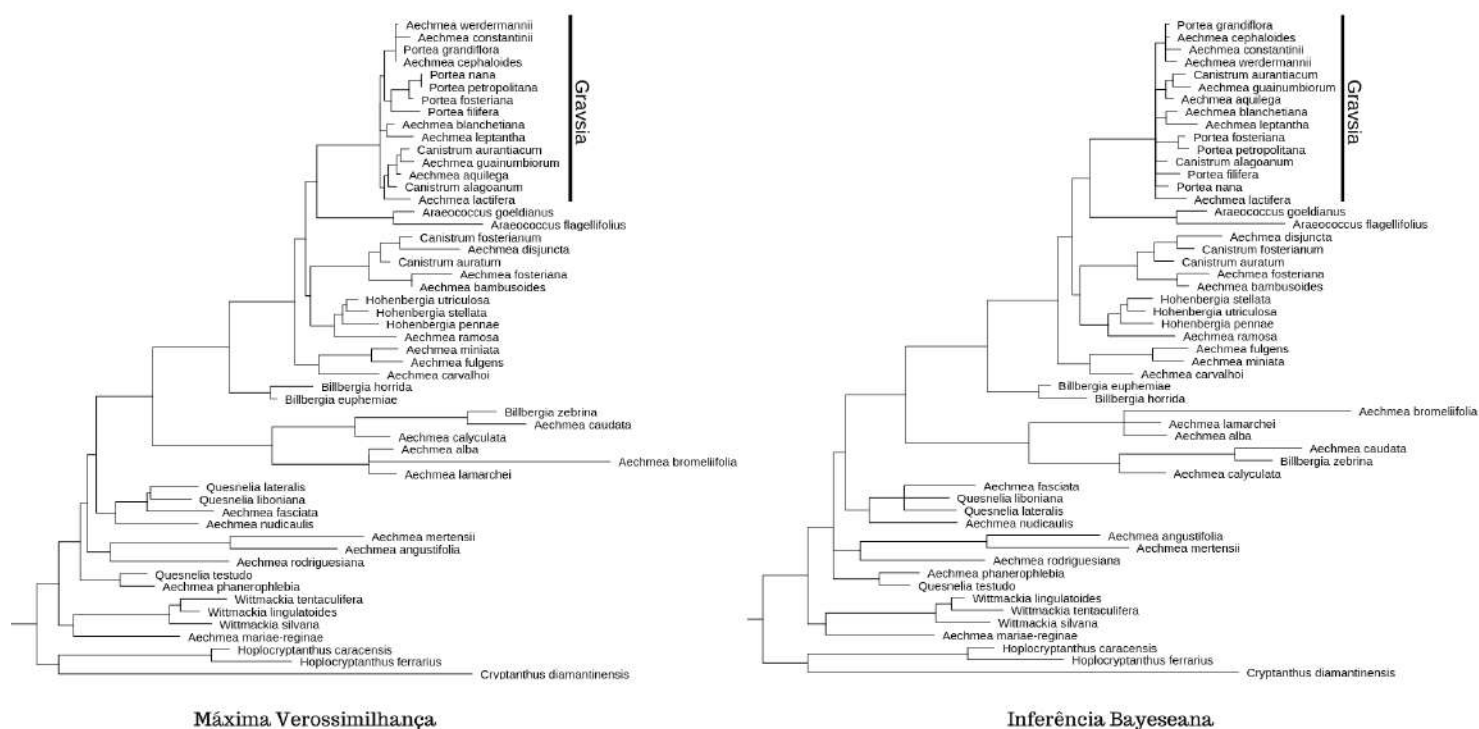
- Kersten, R. D. A. (2010). Epífitas vasculares: Histórico, participação taxonômica e aspectos relevantes, com ênfase na Mata Atlântica. *Hoehnea*, 37, 09-38.
- Goetze, M., Zanella, C. M., Palma-Silva, C., Büttow, M. V., & Bered, F. (2017). Incomplete lineage sorting and hybridization in the evolutionary history of closely related, endemic yellow-flowered *Aechmea* species of subgenus *Ortgiesia* (Bromeliaceae). *American Journal of Botany*, 104(7), 1073-1087.
- Goncalves-Oliveira, R. C., & Wanderley, M. D. G. L. (2017). A new species of *Hohenbergia* (Bromeliaceae) from the Atlantic Forest of Northeast Brazil. *Phytotaxa*, 302(3), 285-289.
- Gouda, E. J., Butcher, D., & Dijkgraaf, L. (cont. atualizado) *Encyclopaedia of Bromeliads*, Versão 5. Utrecht University Botanic Gardens, online <http://bromeliad.nl/encyclopedia/> (acessado: 12-10-2023).
- Heller, S., Leme, E., Schulte, K., Benko-Iseppon, A. M., & Zizka, G. (2015). Elucidating phylogenetic relationships in the *Aechmea* alliance: AFLP analysis of *Portea* and the *Gravisia* complex (Bromeliaceae, Bromelioideae). *Systematic Botany*, 40(3), 716-725.
- Horres, R., Schulte, K., Weising, K., & Zizka, G. (2007). Systematics of Bromelioideae (Bromeliaceae)—evidence from molecular and anatomical studies. *Aliso: A Journal of Systematic and Floristic Botany*, 23(1), 27-43.
- LEME, E. M., Zizka, G., De Souza, E. H., Paule, J., De Carvalho, J. D., Mariath, J. E., ... & Ribeiro, O. B. (2022). New genera and a new species in the "Cryptanthoid Complex" (Bromeliaceae: Bromelioideae) based on the morphology of recently discovered species, seed anatomy, and improvements in molecular phylogeny. *Phytotaxa*, 544(2), 128-170.
- Maciel, J. R., Louzada, R. B., Benko-Iseppon, A. M., Zizka, G., & Alves, M. (2018). Polyphyly and morphological convergence in Atlantic Forest species of *Aechmea* subgenus *Chevaliera* (Bromeliaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 188(3), 281-295.
- Maciel, J. R., Louzada, R., & Alves, M. (2015). *Aechmea* Ruiz & Pavón from the northern portion of the Atlantic Forest. *Rodriguésia*, 66, 477-492.
- Martinelli, G., Vieira, C. M., Gonzalez, M., Leitman, P., Piratininga, A., Costa, A. F. D., & Forzza, R. C. (2008). Bromeliaceae da Mata Atlântica brasileira: lista de espécies, distribuição e conservação. *Rodriguésia*, 59, 209-258.
- Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., Da Fonseca, G. A., & Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403(6772), 853-858.
- Paradis, E. (2014). An Introduction to the Phylogenetic Comparative Method. In *Modern Phylogenetic Comparative Methods and Their Application in Evolutionary Biology* (pp. 3–18). doi:10.1007/978-3-662-43550-2_1

- Palma-Silva, C., Leal, B. S., Chaves, C. J., & Fay, M. F. (2016). Advances in and perspectives on evolution in Bromeliaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(3), 305-322.
- Read, R. W., & Luther, H. E. (1991). The Aechmea/Gravifla complex (Bromeliaceae). *Selbyana*, 12, 54-67.
- Silvestro, D., Zizka, G., & Schulte, K. (2014). Disentangling the effects of key innovations on the diversification of Bromelioideae (Bromeliaceae). *Evolution*, 68(1), 163-175.
- Smith, L. B. (1955). The bromeliaceae of Brazil. *Smithsonian Miscellaneous Collections*.
- Smith, L. B. (1970). Notes on Bromeliaceae, XXX. *Phytologia*, 19(4), 281.
- Smith LB, Downs RJ (1979). Bromelioideae (Bromeliaceae). *Flora Neotropica Monograph*.
- Smith LB, Till W (1998). Bromeliaceae. In: Kubitzki K, ed. *The families and genera of vascular plants*. Vol. 4. Alismatanae and Commelinanae (except Graminae). Berlin: Springer-Verlag, 74-99.
- Simmons, M. P., Zhang, L. B., Webb, C. T., & Müller, K. (2007). A penalty of using anonymous dominant markers (AFLPs, ISSRs, and RAPDs) for phylogenetic inference. *Molecular phylogenetics and Evolution*, 42(2), 528-542.
- Sobral-Souza, T., Lima-Ribeiro, M. S., & Solferini, V. N. (2015). Biogeography of Neotropical Rainforests: past connections between Amazon and Atlantic Forest detected by ecological niche modeling. *Evolutionary Ecology*, 29, 643-655.
- Schulte, K., Barfuss, M. H. J., & Zizka, G. (2009). Phylogeny of Bromelioideae (Bromeliaceae) inferred from nuclear and plastid DNA loci reveals the evolution of the tank habit within the subfamily. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 51(2), 327-339. doi:10.1016/j.ympev.2009.02.003
- Siqueira Filho, J. A., & de Araujo, D. S. D. (2007). Fragments of the Atlantic forest of Northeast Brazil: Biodiversity, conservation, and the Bromeliads. *Jakobsson*.
- Weyenberg, G., & Yoshida, R. (2015). Chapter 12-Reconstructing the Phylogeny: Computational Methods. *Algebraic and Discrete Mathematical Methods for Modern Biology*. RS Robeva.

APÊNDICE - FILOGENIA E RECONSTRUÇÃO ANCESTRAL DE ESTADOS DE CARACTERES DO COMPLEXO GRAVISA (BROMELIACEAE, BROMELIOIDEAE)



Apêndice 1: Incongruência entre topologias inferidas com Máxima Verossimilhança (1000) dos dados nucleares e plastidial.



Apêndice 2: Congruência entre as topologias inferidas por MV e IB.