

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SUELLEN DO SOCORRO GIOVANNI

**PLASTICIDADE FENOTÍPICA E VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Rhipsalis*
dissimilis f. *epiphyllanthoides*
(CACTACEAE).**

**CURITIBA
2012**

SUELLEN DO SOCORRO GIOVANNONI

**PLASTICIDADE FENOTÍPICA E VARIABILIDADE GENÉTICA DE *Rhipsalis*
dissimilis f. *epiphyllanthoides*
(CACTACEAE).**

Monografia apresentada como requisito parcial à conclusão do grau de Bacharel em Ciências Biológicas, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a Dr^a Valéria Cunha Muschner

Co-orientadora: Prof^a Dr^a Patricia Soffiatti

CURITIBA

2012

AGRADECIMENTOS

A todos os espíritos iluminados que me acompanham.

A Patricia Soffiatti pela orientação e introdução ao mundo dos cactos!

A Valéria Muschner pela orientação e introdução à ecologia molecular!

Ao André Soller pelo auxílio na coleta e identificação do material.

Ao Paulo Bueno pelo auxílio na estatística.

A professora Maria Regina Torres Boeger pelo uso do Laboratório de Morfologia e Ecologia Foliar e o professor Walter Boeger pelo uso do Laboratório de Ecologia Molecular e Parasitologia Evolutiva.

Ao Nilson Belém Filho pela amizade e uso do laboratório de Botânica Estrutural.

A Sikandra Garcia, Jaqueline dos Santos, Carlos Vana, Luciana Patella e demais colegas de laboratório pelo auxílio nesse trabalho.

A todos os meus amigos que me auxiliaram em todos os momentos, em especial à Bárbara Yuri Katahira.

Ao biólogo e Mestre em Botânica, Anderson Santos de Mello, exemplo tanto profissional quanto pessoal.

Aos meus pais pela compreensão.

“It is not the strongest of the species that survive or the most intelligent, but the ones most responsive to change”.

Charles Darwin

RESUMO

Rhipsalidae é uma das duas tribos de Cactoideae mais representativas no Brasil, sendo o seu centro de diversidade as formações Atlânticas da região Sudeste. Dentro deste grupo, a espécie *Rhipsalis dissimilis* forma *epiphyllanthoides* Barthlott & N.P.Taylor destaca-se por sua forma rupícola e ocorrência restrita ao estado do Paraná. No presente trabalho, buscou-se avaliar, por meio de estudos morfológicos, anatômicos e genéticos, a plasticidade fenotípica da espécie e verificar se esta pode ser correlacionada à variabilidade genética entre as duas populações analisadas (Parque estadual do Guartelá e Parque Estadual de Vila Velha). Foram coletados 17 indivíduos por população. Para cada indivíduo, foram avaliados os seguintes parâmetros morfológicos: comprimento, diâmetro, massa seca e fresca, índice de água, área e volume, densidade estomática e areolar dos caules. Para os estudos anatômicos, foram avaliados os seguintes parâmetros: espessura da cutícula, epiderme hipoderme, córtex e cilindro vascular. Para os estudos moleculares dois fragmentos do DNA de cloroplasto (*psbA-trnH* e *trnS-trnG*) foram amplificados e nenhuma variabilidade nucleotídica foi detectada. Dentre as características morfológicas e anatômicas analisadas, todas foram estatisticamente diferentes entre as populações. Associam-se estas diferenças às condições climáticas distintas de cada formação: na região do Guartelá, há uma maior insolação com temperaturas médias nos meses mais quentes superiores à da região de Vila Velha. Isso implica que a população do Guartelá apresenta indivíduos mais robustos, com maior acúmulo de tecidos protetores (epiderme) e armazenador de água (córtex).

Palavras-chave: anatomia, morfologia, caule, *psbA-trnH* - *trnS-trnG* , Cactoideae.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – MAPA DE LOCALIZAÇÃO DO PARQUE ESTADUAL DO GUARTELÁ E PARQUE ESTADUAL DE VILA VELHA.	8
FIGURAS 2-5. AFLORAMENTOS ROCHOSOS COM <i>Rhipsalis dissimilis</i> . 2. PARQUE ESTADUAL DO GUARTELÁ, PARANÁ. 3. PARQUE ESTADUAL DE VILA VELHA, PARANÁ. 4-5. DETALHE DA ESPÉCIE.	9
FIGURAS 6 - 11. SECÇÕES TRANSVERSAIS DO CAULE DE <i>Rhipsalis dissimilis</i> . 6. VISTA GERAL DO CÓRTEX. 7. EPIDERME UNISSERIADA. 8. PERIDERME. 9. FEIXE CORTICAL. 10. CILINDRO VASCULAR. 11. DETALHE DO FLOEMA E XILEMA SECUNDÁRIO.....	15
FIGURA 12 - DENDROGRAMA BASEADO NA VARIÂNCIA DAS CARACTERÍSTICAS ANALISADAS.....	18

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - DADOS CLIMÁTICOS DAS LOCALIDADES ESTUDADAS.....	8
TABELA 2 - CONCENTRAÇÃO DOS REAGENTES UTILIZADOS NAS REAÇÕES DE PCR NO ESTUDO DE <i>R. dissimilis</i>	12
TABELA 3 – VALOR MÉDIO, DESVIO-PADRÃO E VARIÂNCIA DAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E ANATÔMICAS DA POPULAÇÃO DE <i>R. dissimilis</i> DO PARQUE ESTADUAL DO GUARTELÁ E PARQUE ESTADUAL DE VILA VELHA, RESPECTIVAMENTE. LETRAS DIFERENTES NA MESMA LINHA INDICAM QUE OS VALORES SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES (TESTES T E DE MANN-WHITTNEY. P<0,05).....	17

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	2
1.1 Revisão bibliográfica.....	3
2 OBJETIVOS	6
2.1 Objetivo geral.....	6
2.2 Objetivos específicos.....	6
3-MATERIAL E MÉTODOS	7
3.1 Local de coleta.....	7
3.2 A espécie.....	9
3.3 Metodologia.....	10
3.3.1 Análise morfológica e anatômica.....	10
3.3.2 Análise molecular.....	11
4 RESULTADOS	13
4.1 Descrição anatômica.....	13
4.2 Análise morfológica.....	14
4.3 Análise molecular.....	18
5 DISCUSSÃO	19
5.1 Variabilidade morfológica.....	19
5.2 Variabilidade genética.....	22
6 CONCLUSÃO	24
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	25
8 ANEXOS	32

1 INTRODUÇÃO

A Família Cactaceae, endêmica do Novo Mundo (com exceção de *Rhipsalis baccifera*), encontra-se subdividida em quatro subfamílias (ANDERSON, 2001), onde Cactoideae destaca-se como a maior, em número de espécies (cerca de 1.600), e mais diversificada, estando subdividida em nove tribos (TAYLOR & ZAPPI, 2004). Destas, Cereeae e Rhipsalideae são as mais representativas no Brasil (TAYLOR & ZAPPI, 2004).

Dentro da família, a maioria dos cactos epífitos são encontrados em duas tribos, Hylocereeae e Rhipsalideae. A tribo Rhipsalideae possui o seu centro de diversidade na Floresta Atlântica, onde as espécies ocorrem desde o litoral até cerca de 2000 m de altitude e muitas são endêmicas (TAYLOR, 1997). Membros dessa tribo apresentam caules relativamente pouco suculentos, geralmente pendentes, com raízes adventícias e aréolas geralmente sem espinhos (CALVENTE, 2010). A classificação mais recente da tribo reconhece quatro gêneros – *Rhipsalis*, *Hatiora*, *Lepismium* e *Schlumbergera* – sendo *Rhipsalis* o maior deles em número de espécies (CALVENTE, 2010).

Rhipsalis é subdividido em 37 espécies e três subgêneros (CALVENTE, 2010). As espécies de *Rhipsalis* são, em sua maioria, constituídas por plantas epífitas, algumas rupícolas ou terrestres, com caules cilíndricos, aplanados ou angulados e flores, em geral, pequenas e diurnas. Cerca de 80% das espécies do gênero são endêmicas ao Brasil (CALVENTE, 2010). A destruição das formações florestais Atlânticas vem acarretando a perda de muitas espécies deste grupo, onde várias delas encontram-se na “Lista Vermelha” do CITES (TAYLOR, 1997), como “vulneráveis” ou mesmo, extintas, sendo que muitas se apresentam sem definição do status, pois os dados de coletas são insuficientes (CALVENTE, 2010).

Rhipsalis dissimilis é conhecida por duas formas, uma epífita, *R. dissimilis* forma *dissimilis* K.Schum., e *R. dissimilis* forma *epiphyllanthoides* Barthlott & N.P.Taylor, de hábito rupícola, com distribuição restrita ao estado do Paraná (TAYLOR, 1997).

R. dissimilis forma *epiphyllanthoides* é representada por plantas rupícolas eretas, de até 70 cm de altura, encontrada em afloramentos rochosos no Paraná, com registros *in situ* nos Parques Estaduais do Guartelá e de Vila Velha. Existem poucos registros em herbários para ambas as formas de *R. dissimilis*, sendo que há registros da forma epífita para o Estado de São Paulo e Paraná.

1.1 Revisão bibliográfica

A plasticidade fenotípica é definida como uma propriedade do genótipo de cada indivíduo em produzir diferentes fenótipos quando expostos a diferentes condições ambientais (PIGLIUCCI et al, 2006). A resposta do genótipo pode ser diferente mesmo em condições ambientais semelhantes, ou seja, em uma população, os indivíduos podem responder diferentemente à mudança de um mesmo caráter os quais podem ser morfológicos, fisiológicos, comportamentais e de desenvolvimento (PIGLIUCCI et al, 2006).

Estudos que avaliaram o quanto a plasticidade afeta a interação dos organismos com o ambiente geralmente envolvem fatores bióticos (predação, herbivoria e competição) ou abióticos (temperatura, luz) ou ainda focam na resposta do fenótipo a diferentes condições ambientais (MINER et al, 2005). Assim, a resposta da plasticidade a fatores abióticos pode indiretamente afetar fatores bióticos como competição, facilitação e também fatores relacionados a cadeia trófica (MINER et al, 2005).

Muitos organismos possuem a habilidade de modificar o ambiente em que vivem, o que é denominado de 'construção do nicho' (ODLING-SMEE, 1996), fenômeno este que pode ser resultado da plasticidade fenotípica, segundo Donohue (2005). Isso pode ser exemplificado em plantas que respondem ao sombreamento alongando seus caules, de forma que os

órgãos fotossintéticos capturam mais luz ao mesmo tempo em que cobrem outras plantas (DONOHUE, 2003).

Para uma melhor compreensão dos processos ecológicos que envolvem a plasticidade fenotípica e genotípica, Aubin-Horth e Renn (2009) fizeram uma revisão dos estudos que abordam a plasticidade fenotípica em diversos organismos a partir de caracteres moleculares e celulares. As autoras observaram que a interface entre as interações moleculares com o ambiente auxilia a entender melhor como funciona a plasticidade fenotípica, mas que muitos estudos ainda precisam ser feitos para se entender melhor este fenômeno. Embora existam inúmeros trabalhos abordando a plasticidade fenotípica em diversos organismos, não existe nenhuma correlação consistente desta com a variabilidade genética (SCHLICHTING, 1986; SULTAN, 1987).

Estudos sobre a estrutura genética de populações de Cactaceae foram realizados em aproximadamente 30 espécies da Família (FIGUEIREDO et al, 2010), por meio de diferentes marcadores RAPD, ISSR, microssatélite e principalmente alozimas. Esses trabalhos evidenciam uma alta variabilidade genética que incluem em sua maioria cactos colunares, da subfamília Cactoideae (FIGUEIREDO et al, 2010). Estudos com o cacto globoso *Melocactus* evidenciaram alta variabilidade genética em *M. curvispinus* (NASSAR et al, 2001) e baixa em *Melocactus paucispinus* e *Melocactus glaucescens* (LAMBERT et al, 2006^a; 2006^b). Na subfamília Pereskioideae foi detectada alta variabilidade genética na espécie de forma arbustiva, *Pereskia guamacho* (NASSAR et al, 2002). Na subfamília Opuntioideae, a espécie endêmica de forma arbustiva, *Consolea corallicola* apresentou variação genética intrapopulacional em quatro dos 64 loci analisados por ISSR (CARIAGA et al, 2005), diferente do encontrado para a espécie *Opuntia echios*, onde nenhuma variabilidade foi encontrada (HELSEN et al, 2009).

Estudos envolvendo a variabilidade morfológica em Cactaceae são poucos e nenhuma generalização pode ser feita até o momento. O efeito do sombreamento na frutificação, crescimento e morfologia das espécies dos cactos de forma hemiepífita, *Hylocereus polyrhizus* e *Selenicereus megalanthus* mostrou que, a primeira se desenvolveu melhor em ambiente

com maior luminosidade e a segunda em ambientes mais sombreados (RAVEH et al, 1998). A comparação de uma população modificada artificialmente com uma selvagem de *Stenocereus stellatus*, um cacto colunar, mostrou que a maioria das características morfológicas analisadas foram significativamente diferentes entre as populações (CASAS et al, 1999). O trabalho de Baker e Johnson (2000) mostrou que os “taxa” dos cactos globosos *Escobaria guadalupensis*, *E. sneedii* var. *sneedii* e *E. sneedii* var. *leei* diferem significativamente em características relacionadas a quantidade e formato do espinho e ramificação. Já as populações de *Melocactus paucispinus* e *Melocactus glaucescens* não apresentaram diferenças morfológicas relacionadas ao espinho, caule, costela e cefálio. (LAMBERT et al, 2006^a;2006^b).

Na análise da plasticidade fenotípica da cactácea arbustiva, *Opuntia pussila*, ocorreu uma notável diferença estatística na morfologia do controle e das plantas submetidas à maior luz e calor, sendo que estas apresentaram mais espinhos e maior diâmetro do cladódio e da raiz (MAJURE, 2007).

Comparando as espécies de forma hemiepífita de valor comercial *Hylocereus*, *Selenicereus* e *Epiphyllum*, verificaram-se diferenças no tamanho e na densidade dos estômatos e no número de flores, sementes e massa dos frutos entre os gêneros estudados (TEL-ZUR, et al 2010).

Em cactos epífitos foi verificado que as espécies *Lepismium cruciforme*, *L. lumbricoides* e *Rhipsalis floccosa* possuem modificações morfológicas para se adaptarem às condições de alta umidade e baixa incidência luminosa do ambiente e que perderam algumas das adaptações encontradas nas Cactaceae terrestres (BOEGER et al, 2010; GARCIA, 2011).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a plasticidade fenotípica, de *Rhipsalis dissimilis* forma *epiphyllanthoides* Barthlott & N.P.Taylor, por meio de estudos morfológicos, anatômicos e genéticos.

2.2 Objetivos específicos

Verificar a variabilidade genética das duas populações de *Rhipsalis dissimilis* forma *epiphyllanthoides*;

Verificar se existe relação entre a plasticidade fenotípica e a variabilidade genética das populações de *Rhipsalis dissimilis* forma *epiphyllanthoides*.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Local de coleta

Os indivíduos foram coletados na região denominada de Campos Gerais do Paraná, nos Parques Estaduais de Vila Velha e Guartelá. Os Campos Gerais foram definidos por Maack (2002) como uma zona fitogeográfica formada por campos limpos e matas de galeria ou capões isolados de Floresta Ombrófila Mista da borda do Segundo Planalto Paranaense. Esses campos constituem de vegetação relictual isolada pela Escarpa Devoniana, remanescente de épocas secas do Período Quaternário (MAACK, 2002).

O Parque Estadual de Vila Velha possui uma área de 3.122,11 hectares e está localizado entre as coordenadas 25°12'S e 49°58'W, com altitude máxima de 1068m na área denominada Fortaleza. O clima, segundo a classificação de Köeppen, é do tipo Cfb, ou seja, não ocorre estação seca definida e a temperatura média no mês mais quente é inferior a 22°C e no mês mais frio é inferior a 18°C. As geadas são severas e mais freqüentes em relação ao clima Cfa (IAP, 2004). A temperatura média mensal é de 18,4°C, com precipitação de 114,3mm e umidade relativa de 80,7%. A velocidade média do vento é de 3,3 m/s (médias dos anos 2000 a 2010 da estação meteorológica de Ponta Grossa) (SIMEPAR, 2011). A vegetação encontra-se no domínio da Floresta Ombrófila e constitui-se de um complexo mosaico com áreas ocupadas por Floresta Ombrófila Mista Montana, Floresta Ombrófila Mista Aluvial, formações pioneiras de influência fluvial (várzea), refúgios vegetacionais rupestres (afloramentos de arenito), savana gramíneo lenhosa, savana higrófila (campo úmido), além de restritas ocorrências de espécies da savana arbórea aberta (CERVI et al, 2007).

O Parque Estadual do Guartelá encontra-se, no município de Tibagi, micro-região geográfica de Telêmaco Borba. Com uma área de 798,97 hectares está localizado entre as coordenadas: 24° 34' S; 50° 14' W. O clima, segundo a classificação de Köeppen, é do tipo Cfa, ou seja, mesotérmico, sem estação seca, com verões quentes e com média do mês mais quente superior a 22 °C, sendo as geadas freqüentes; o Parque recebe influência indireta do clima Cfb. A temperatura média anual é de 19,1°C, com

precipitação de 121,1 mm e umidade relativa média de 82,5%. A velocidade média do vento é de 1,5 m/s (médias dos anos 2000 a 2010 da Estação meteorológica de Telêmaco Borba) (SIMEPAR, 2011). A vegetação do Parque Estadual do Guartelá é caracterizada por um mosaico de diferentes tipos vegetacionais classificados em estepe gramíneo-lenhosa, savana arborizada e Floresta Ombrófila Mista (VELOSO et al, 1991). A fisionomia vegetal predominante é constituída de formações campestres (estepe gramíneo- lenhosa) geralmente associada a Floresta Ombrófila Mista (CARMO, 2006).

Os dados climáticos das localidades encontram-se na Tabela 1 e o mapa de localização na Figura 1.

TABELA 1 - DADOS CLIMÁTICOS DAS LOCALIDADES ESTUDADAS

FONTE: IAPAR*, 2001; SIMEPAR, 2011.

Dados meteorológicos	Ponta Grossa	Telêmaco Borba
Temperatura média (°C)(min.- max.)	18.4 (13.5-22)	19.1 (13.6-22.9)
Precipitação média (mm)	114.3	121.2
Clima	Cfb	Cfa
Umidade relativa média do ar (%)	80.7	82.5
Velocidade média do vento (m/s)	3.3	1.5
Evaporação* (mm)	77.5	71.5
Insolação* (horas)	176	192

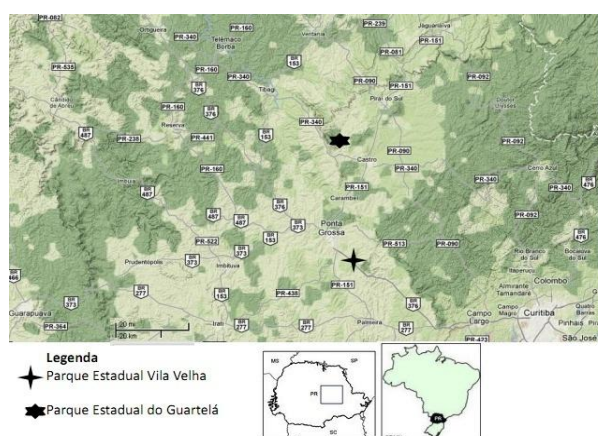
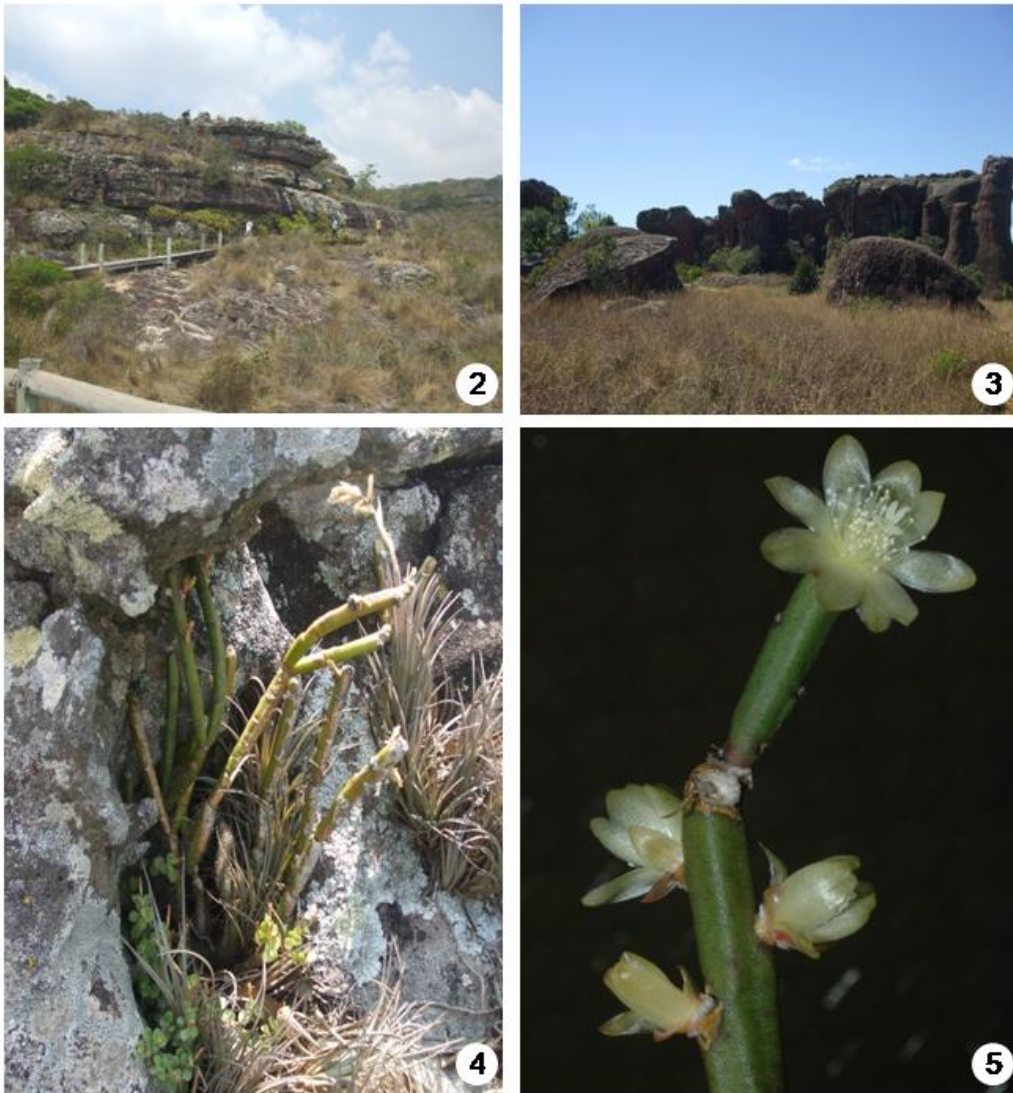


FIGURA 1 – MAPA DE LOCALIZAÇÃO DO PARQUE ESTADUAL DO GUARTELÁ E PARQUE ESTADUAL DE VILA VELHA.

FONTE: Google, 2011.

3.2 A espécie

Rhipsalis dissimilis forma *epiphyllanthoides* Barthlott & N.P.Taylor é uma planta rupícola que apresenta caule com segmentos com 6-9 costelas e crescimento determinado. As aréolas são superficiais no ápice das costelas, as aréolas férteis são lanosas e as aréolas estéreis com tricomas ou espinhos. As flores são apicais, subapicais ou laterais. O fruto é rosa ou vinho com a parte superior mais escura. (comunic.pess. André Soller).



FIGURAS 2-5. AFLORAMENTOS ROCHOSOS COM *Rhipsalis dissimilis*. 2. PARQUE ESTADUAL DO GUARTELÁ, PARANÁ. 3. PARQUE ESTADUAL DE VILA VELHA, PARANÁ. 4-5. DETALHE DA ESPÉCIE. FONTE: A autora; Goldenberg, R. (2010).

3.3 Metodologia

Foram coletados 17 indivíduos de cada população de *R. dissimilis* forma *epiphyllanthoides*, localizadas no Parque Estadual de Vila Velha e no Parque Estadual do Guartelá, no Paraná.

3.3.1 Análise morfológica e anatômica

Para o caule de cada indivíduo, foi medido o comprimento total com uma fita milimetrada. O diâmetro foi mensurado com o auxílio de um paquímetro digital. Os caules foram pesados em balança analítica Celtac, com precisão de 0,0001 g para obter a massa fresca, em seguida secos em estufa por 72 horas a 50°C, e novamente pesados para obter a massa seca. O teor de água dos caules foi calculado pela diferença entre a massa fresca e a massa seca. Por ser um caule cilíndrico, a área caulinar - AC (área fotossintetizante) foi estimada pela fórmula $AC=2*\pi*(1/2 \text{ diâmetro})^2$ (BOEGER et al, 2010).

Para o estudo quantitativo da densidade estomática e areolar secções epidérmicas foram feitas à mão livre com auxílio de lâmina de barbear. A densidade areolar e estomática foram estimadas com a média aritmética de 25 campos de 1 mm² observados ao microscópio fotônico (CALVENTE et al , 2008). Foram mensurados dois campos do caule da porção mediana de cada indivíduo, totalizando 20 campos por indivíduo.

Para o estudo anatômico, amostras do caule da região mediana foram fixadas em FAA 70 e conservadas em etanol 70%. As amostras foram desidratadas em série etílica, incluídas em hidróxi-etil-metacrilato (Leica), seccionadas transversalmente com 15-20 µm de espessura em micrótomo rotativo e coradas com azul de toluidina. As fotomicrografias foram obtidas em máquina digital acoplada em microscópio Olympus. Nas lâminas permanentes e semi-permanentes, as medições de espessuras da cutícula, epiderme, hipoderme, córtex e cilindro central, foram realizadas em microscópio fotônico (OLYMPUS CBA), com câmara clara acoplada.

Os testes estatísticos descritivo, T e de Mann-Whitney foram realizados pelo programa BioEstat 5.0 (AYRES et al, 2007) com 5% de significância. O

dendrograma (análise Euclidiana de cluster) foi elaborado no programa Paleontological Statistics – PAST (HAMMER et al, 2003).

3.3.2 Análise molecular

Para a análise molecular, amostras dos caules de todos os indivíduos coletados foram desidratadas em sílica gel e maceradas em nitrogênio líquido. A extração de DNA foi realizada conforme o protocolo de Roy modificado (1992) e o extrato foi quantificado em fluoroespectrômetro (NanoDrop 3300).

Os espaçadores intergênicos *psbA-trnH* e *trnS-trnG* do DNA do cloroplasto foram selecionados por serem regiões altamente variáveis em inúmeras famílias de angiospermas (citar alguns autores). Estes foram amplificados por PCR. O espaçador *psbA-trnH* amplificou para todos os indivíduos e o espaçador *trnS-trnG* amplificou 14 amostras, sendo seis destas correspondendo a indivíduos do Parque Estadual do Guartelá e sete da população de Vila Velha. As concentrações dos reagentes utilizados nas reações de PCR (volume final de 25 μ l) encontram-se discriminadas na Tabela 2. A amplificação das amostras ocorreu nas seguintes condições (*psbA-trnH*): desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguido de 35 ciclos (94°C por 1 minuto, 54°C por 1 minuto, 72° por 1 minutos e 30 segundos); (*trnS-trnG*): desnaturação inicial a 94°C por 7 minutos, seguido de 30 ciclos com temperatura de 94°C a 1 minuto, 56°C a 1 minuto e 72°C por 1 minuto e 30 segundos. Extensão final a 72°C por 10 minutos para os dois espaçadores.

A eletroforese foi conduzida em gel de agarose 1,5% em tampão 1x Tris/Borato/EDTA (TBE) a 130 Volts. Ao final do processo, o gel foi corado com brometo de etídeo e fotodocumentado.

O produto da PCR foi purificado segundo o protocolo de Dunn e Blattner (1986, modificado) para posterior seqüenciamento. O seqüenciamento do DNA foi realizado em sequenciador automático *ABI 3130 – Genetic Analyzer*, seguindo os protocolos que acompanham o equipamento. Ambas as fitas de cada espaçador foram seqüenciadas.

TABELA 2 – CONCENTRAÇÃO DOS REAGENTES UTILIZADOS NAS REAÇÕES DE PCR NO ESTUDO DE *R. dissimilis*.

Primer (reagente)	Primer (pmoles/ μ l)	<i>Taq</i> Platinum Polimerase (U)	dNTP (mM)	MgCl ₂ (mM)	BSA (mg// μ l)	DNA (ng)
<i>psbA-trnH</i>	0,25	1	0,25	2,5	0,03	50
<i>trnS-trnG</i>	0,25	1	0,25	3,0	0,03	50

FONTE: A autora (2011).

As sequências obtidas para os espaçadores intergênicos do DNA do cloroplasto foram alinhadas no programa BioEdit 7.0.9 (HALL, 1999) e corrigidas manualmente quando necessário.

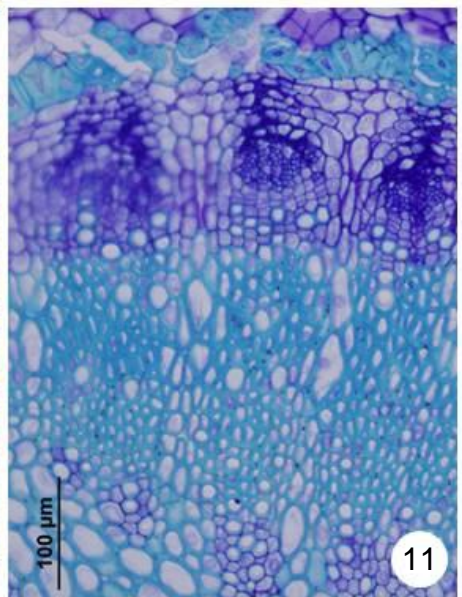
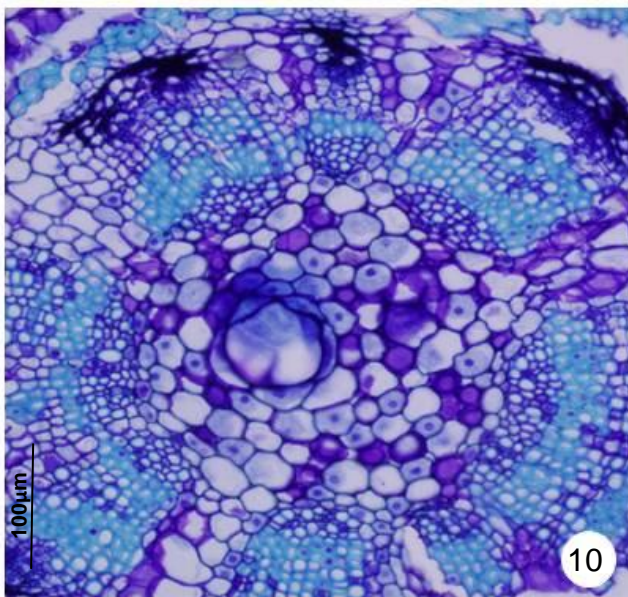
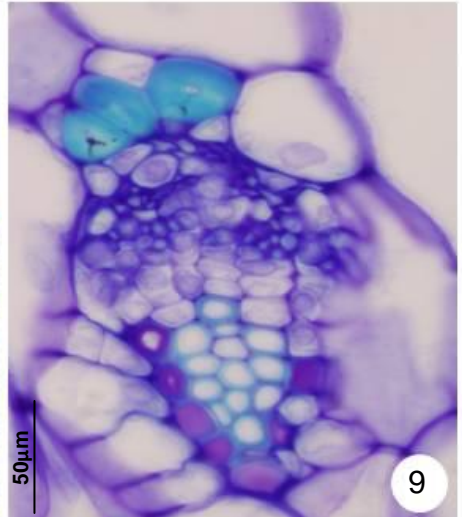
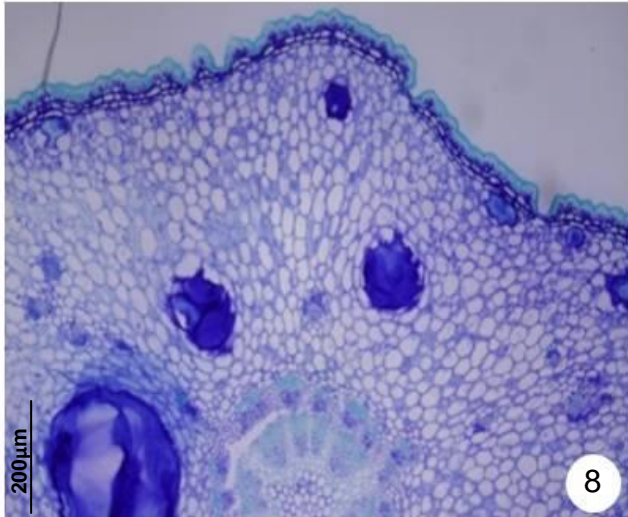
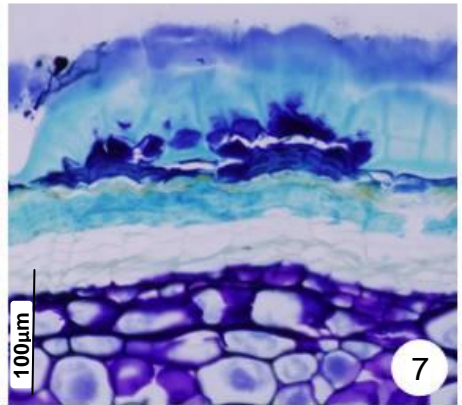
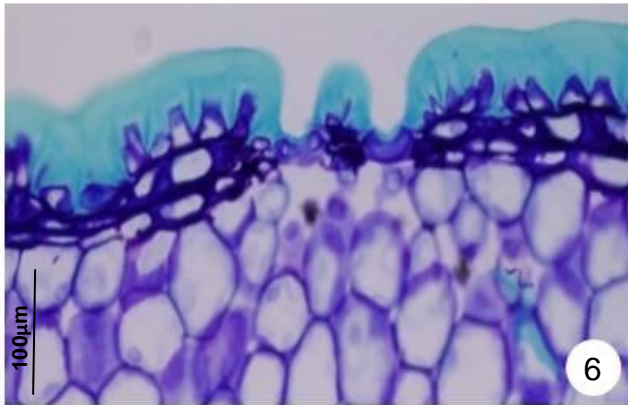
4 RESULTADOS

4.1 Descrição anatômica

A epiderme é unisseriada e coberta por cutícula espessa (Figura 6). A forma das paredes periclinais externas das células epidérmicas é cuneada e apresenta-se lignificada. Os estômatos são paralelocíticos, localizados no mesmo nível das demais células epidérmicas. Abaixo da epiderme, observa-se a hipoderme (Figura 6), formada por 1-2 camadas de células colenquimáticas. Câmaras subestomáticas atravessam a hipoderme. Nas regiões onde a aréola está inativa, observa-se a formação de periderme, composta por camadas de súber composto por células lignificadas alternadas com células com paredes suberizadas, e feloderme pouco desenvolvida (Figura 7). O córtex parenquimático é composto por células isodiamétricas com paredes delgadas, que compreendem o parênquima clorofiliano, mais externo, com muitos cloroplastos, e parênquima aquífero mais internamente. Ocorrem esclereídes, células mucilaginosas e feixes vasculares dispersos no córtex parenquimático (Figuras 8 e 9). Circundando o cilindro vascular ocorre uma faixa descontínua de esclereídes (figura 10). O floema primário está constituído por células colapsadas (Figura 10). O floema secundário é caracterizado por elementos de tubo crivado, células companheiras e parênquima axial e radial. O xilema secundário (Figura 11) é formado por elementos de vaso, predominantemente solitários, podendo ocorrer em múltiplos de 2 ou 3 e placas de perfuração simples. Os raios são largos. Na medula pode ocorrer células lignificadas ou não lignificadas.

4.2 Análise morfológica

As características quantitativas das espécies estudadas estão apresentadas na Tabela 3. As populações apresentaram diferenças estatisticamente significativas em todos os parâmetros analisados. Dentre essas características, com exceção da espessura da cutícula, hipoderme e área fotossintetizante, todas apresentaram os maiores valores médios e variância para a população do Parque Estadual do Guartelá. O dendrograma (figura 12) também mostrou uma tendência das populações serem diferentes entre si, com um grupo sendo formado predominantemente por indivíduos do Parque Estadual do Guartelá e outro por indivíduos do Parque Estadual de Vila Velha.



FIGURAS 6-11. SECÇÕES TRANSVERSAIS DO CAULE DE *Rhipsalis dissimilis*. 6. EPIDERME UNISSERIADA. NOTE CUTÍCULA ESPESSA (c) COM CÉLULAS EPIDÉRMICAS CUNEADAS (SETA); HIPODERME (hip) COM DUAS CAMADAS DE CÉLULAS 7.PERIDERME ALTERNANDO CÉLULAS SUBERIZADAS E LIGNIFICADAS. 8. VISTA GERAL DO CÓRTEX. NOTE AS CÉLULAS DE MUCILAGEM (*); FEIXES VASCULARES CORTICAIS (CÍRCULO) E MEDULA (M); CILINDRO VASCULAR CENTRAL BEM DESENVOLVIDO (cv). 9. FEIXE CORTICAL COM ESCLEREÍDES (ec). 10. CILINDRO VASCULAR. DETALHE PARA AS FAIXAS DE ESCLEREÍDES (ec) AO REDOR DO FLOEMA (fl); XILEMA SECUNDÁRIO (x) ; MEDULA NÃO LIGNIFICADA (m) COM CÉLULAS DE MUCILAGEM (*). 11. DETALHE DO FLOEMA E XILEMA SECUNDÁRIO. ESCLEREÍDES (ec); FLOEMA COLAPSADO (fl); ELEMENTOS DE VASO (SETA); FIBRAS (f);MEDULA LIGNIFICADA(m).

FONTE: A autora (2011).

TABELA 3 – VALOR MÉDIO, DESVIO-PADRÃO E VARIÂNCIA DAS CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS E ANATÔMICAS DA POPULAÇÃO DE *R. dissimilis* DO PARQUE ESTADUAL DO GARTELÁ E PARQUE ESTADUAL DE VILA VELHA, RESPECTIVAMENTE. LETRAS DIFERENTES NA MESMA LINHA INDICAM QUE OS VALORES SÃO SIGNIFICATIVAMENTE DIFERENTES (TESTE T E MANN-WHITNEY $p < 0,05$).

Característica	Parque Estadual do Garatelá		Parque Estadual de Vila Velha	
	Média / Desvio padrão	Variância	Média / Desvio padrão	Variância
Massa seca (g)	4.1 (3.8) ^a	14.5	0.90(0.63) ^b	0.4
Massa fresca (g)	15.7 (15.7) ^a	107.4	2.9 (2.9) ^b	2.9
Índice de água (%)	73 (± 9.0) ^a	81.2	70(± 7.6) ^b	57.43
Comprimento Total (cm)	18.5 (11.9) ^a	143.2	10.4 (3.5) ^b	12.6
Diâmetro mediano (mm)	6.6 (1.6) ^a	2.5	6.3 (1.3) ^b	1.67
Área fotossintetizante (mm ²)	63.8 (26.5) ^b	704.9	69.4 (35.7) ^a	1276.5
Densidade Areolar (μm)	1	0	1	0
Densidade Estomática (n ^o /mm ²)	97.9 (30.0) ^a ;	901.7	48.9 (19.5) ^b	381.0
Espessura da cutícula (μm)	48.5 (20.2) ^b	408.9	61.3 (16.9) ^a	286.2
Espessura da epiderme (μm)	115.2 (42.5) ^a	1807.3	178.5 (51.8) ^b	2679.5
Espessura da hipoderme (μm)	115.5 (42.5) ^b	1806.1	117.7 (42.5) ^a	744.1
Espessura córtex (μm)	5207.0 (1091.1) ^a	11905e+02	5084.7 (690.2) ^b	476426.5
Espessura cilindro central (μm)	1321.2 (471.2) ^a	222023.5	903.5 (322.9) ^b	104311.8

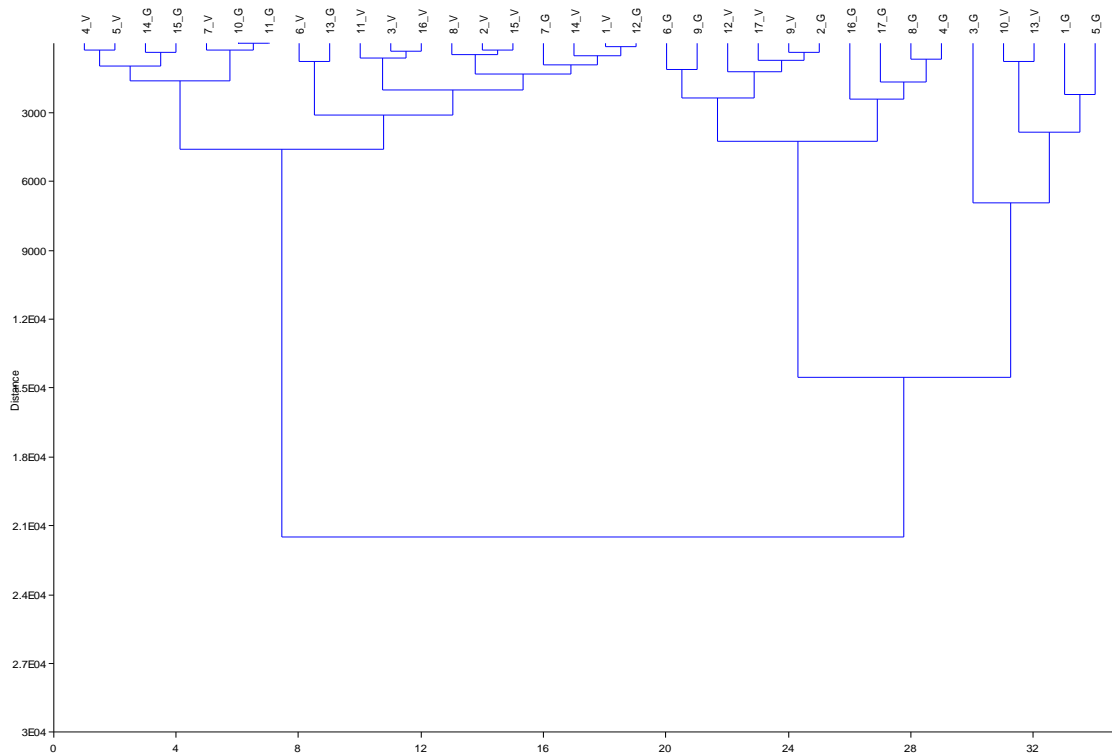


FIGURA 12 - DENDROGRAMA BASEADO NA VARIÂNCIA DAS CARACTERÍSTICAS ANALISADAS. OS INDIVÍDUOS ESTÃO INDICADOS POR NÚMEROS E A POPULAÇÃO DO PARQUE ESTADUAL DE VILA VELHA POR 'V' E A DO PARQUE ESTADUAL DO GARTELÁ POR 'G'. FATOR $r = 0,55$.

4.3 Análise molecular

O alinhamento das sequências dos espaçadores intergênicos plastidiais *psbA-trnH* (277 nucleotídeos) e *trnS-trnG* (609 nucleotídeos) dos indivíduos das duas populações de *R. dissimilis* forma *epiphyllantoides* mostrou ausência de variabilidade genética, tanto entre quanto dentro das populações (alinhamento disponível em anexo).

5 DISCUSSÃO

5.1 Variabilidade morfológica

A espécie possui características morfoanatômicas indicadoras de xeromorfismo, típicas da família Cactaceae, como epiderme unisseriada coberta por cutícula espessa, hipoderme colenquimática, células mucilaginosas e feixes corticais (TERRAZAS & ARIAS 2003; SOFFIATTI & ANGYALOSSY, 2007; CALVENTE et al, 2008).

A espessura da cutícula encontrada variou de 25 a 100 μm , tendo sido os maiores valores observados para a população de Vila Velha, o que pode ser correlacionado à menor precipitação e umidade relativa do local. Em Cactaceae a espessura da cutícula geralmente varia de 1 a 25 μm (TERRAZAS & ARIAS, 2003), com poucas exceções, como espécies de *Blossfeldia* e *Ariocarpus*, que ultrapassam os 100 μm de espessura (BARTHLOTT et al, 1996; LOZA-CORNEJO & TERRAZAS, 2003). A espessura da cutícula na tribo Rhipsalideae varia de 10 a 23 μm em *Lepismium warmingianun*, *Hatiora salicornioides*, *Rhipsalis cereuscula*, *R. sulcata* (DETTKE & MILANEZE-GUTIERRE, 2008), *L. cruciforme*, *L. lumbricoides* (BOEGER, et al 2010) e *R. floccosa* (GARCIA, 2011).

A cutícula espessa funciona como uma barreira de proteção à perda de água para o ambiente através da transpiração, além da proteção contra patógenos, contaminantes e radiação solar (GIBSON & NOBEL, 1986). Os altos valores de espessura da cutícula aqui obtidos podem ser correlacionados ao hábito da espécie, rupícola, cujos indivíduos ocorrem muito expostos à luz e ao vento. Segundo Withner et al (1974) o padrão de espessamento da cutícula, em geral, é determinado pela exposição ao sol. A temperatura, o solo, a umidade atmosférica e a altitude são fatores que também influenciam no espessamento da cutícula (ESAU 1960; WITHNER et al. 1974; SINCLAIR 1990; FAHN & CUTLER 1992; OLIVEIRA & SAJO 1999).

A espessura da hipoderme de *R. dissimilis* foi maior do que o encontrado em *L. cruciforme*, *L. lumbricoides* (BOEGER, et al 2010) e *R. floccosa* (GARCIA, 2011). Segundo Mauseth (1988) em Cactaceae as paredes das

células da hipoderme colenquimática contêm altas concentrações de pectina e hemicelulose, contribuindo para o suporte da planta, além de se constituir uma possível barreira contra patógenos e atuar no acúmulo de água, devido ao potencial higroscópico da celulose. A população do Parque Estadual de Vila Velha apresentou a hipoderme mais espessa do que a do Parque Estadual do Guartelá, o que pode ser entendido como uma maior proteção mecânica, já que a região de Ponta Grossa é um local onde a velocidade do vento é maior.

Os estômatos do tipo paralelocítico são característicos da subfamília Cactoideae, bem como a ocorrência no mesmo nível das demais células epidérmicas, amplamente descrito na literatura para Cactaceae (EGGLI, 1984; FAHN & CUTLER, 1992; LOZA-CORNEJO & TERRAZAS, 2003; TERRAZAS & ARIAS, 2003; MAUSETH, 2006; SOFFIATTI & ANGYALOSSY, 2007; 2009), além da presença das câmaras subestomáticas que atravessam a hipoderme, permitindo a diminuição da transpiração (FAHN & CUTLER, 1992).

A densidade estomática de *R. dissimilis* variou de 16 a 152 n^o/mm², valor muito acima da média encontrada para a subfamília Cactoideae, que varia de 18 a 60 n^o/mm² (GIBSON & NOBEL, 1986). Para as espécies epífitas em geral, que varia de 3 a 30 n^o/mm² em Hylocereeae (TEL-ZUR et al, 2010) e para as espécies de *Lepismium* (BOEGER et al, 2010) e outras espécies de *Rhipsalis* (CALVENTE et al, 2008; GARCIA, 2011). No presente trabalho, a população do Parque Estadual do Guartelá apresentou maior valor médio na densidade estomática, quando comparada a outra população. Os altos valores de densidade estomática encontrados podem estar correlacionados às condições de disponibilidade hídrica dos locais onde ocorrem as populações, onde há precipitações constantes e uma umidade relativa alta (Tabela 1) já que a densidade estomática é influenciada por fatores como exposição solar e umidade atmosférica. Todavia, em ambientes com déficit hídrico, a evaporação excessiva deve ser evitada e a densidade estomática tende a ser menor (HETHERINGTON & WOODWARD, 2003).

A área fotossintetizante da porção mediana de *R. dissimilis* apresentou-se maior do que em *L. lumbricoides* e *Rhipsalis floccosa* (GARCIA, 2011),

possivelmente devido ao seu hábito rupícola. A população do Parque Estadual de Vila Velha foi a que apresentou maior valor médio para área fotossintetizante.

A população do Parque Estadual do Guartelá foi a que apresentou os maiores valores médios de espessura para córtex e cilindro vascular central, e maior índice de água. Estes resultados indicam que essa população investe mais no armazenamento e na condução de água do que a população de Vila Velha, pois as condições ambientais onde esta população ocorre são de maiores precipitação, temperatura e umidade (Tabela 1).

Embora a espessura do córtex de *Rhipsalis dissimilis* tenha se apresentado maior que em outras espécies da tribo, o conteúdo de água observado em *R. dissimilis* está entre 70-73%, valor um pouco menor do que o obtido para as espécies de *Lepismium* (80%) (BOEGER et al, 2010), mas semelhante ao encontrado em *R. floccosa* (71,85%) por Garcia (2011).

Os indivíduos de *R. dissimilis* possuem amplas e numerosas células de mucilagem distribuídas pelo córtex nas duas populações que é outra estratégia para o armazenamento de água em cactos, pois a mucilagem é altamente higroscópica (GIBSON & HORAK, 1978; LOZA-CORNEJO & TERRAZAS, 2003). Os feixes vasculares corticais, como mencionado por Mauseth (1989) para *Melocactus intortus* e por outros autores, para outras espécies de cactos, vascularizam o córtex, (MAUSETH & SAJEVA, 1992; MAUSETH, 2006; SOFFIATTI & ANGYALOSSY, 2007) agindo como veias de uma folha (MAUSETH, 1989).

O diâmetro mediano, a espessura dos tecidos de revestimento, sustentação e condução da porção mediana de ambas as populações, foi maior do que o encontrado em outras Cactaceae epífitas (BOEGER et al, 2010; GARCIA, 2011), devido ao seu hábito rupícola revelando que estas plantas são mais robustas do que as espécies epífitas relacionadas.

Considerando o conjunto de dados aqui analisados, a espécie *R. dissimilis* forma *epiphyllanthoides* apresenta-se morfologicamente diferente das outras espécies do gênero, o que pode estar diretamente relacionado ao seu hábito diferenciado – terrestre - rupícola. Este hábito favorece o maior acúmulo de água pelos tecidos e uma maior proteção contra a perda de água e insolação do que nas demais espécies epífitas relacionadas.

O dendrograma (Figura 12) separou os indivíduos em dois grupos, sendo um formado principalmente por indivíduos do Parque Estadual de Vila Velha e outro por indivíduos do Parque Estadual do Guartelá. Isso indica que as características morfoanatômicas analisadas são diferentes entre as populações. Aliado ao resultado do dendrograma, os indivíduos das duas populações apresentaram diferenças significativas em todos os parâmetros morfológicos e anatômicos analisados, o que reflete as condições ambientais diferenciadas de cada localidade.

5.2 Variabilidade Genética

De modo geral, em Cactaceae, as formas colunares, inclusive as espécies de distribuição restrita, são caracterizadas por possuir altos níveis de diversidade genética (FIGUEIREDO et al, 2010) devido às longas distâncias percorridas pelo polinizador e o sistema de dispersão da semente que podem promover alto fluxo gênico entre as populações (FIGUEIREDO et al, 2010). Vários autores associaram a alta variabilidade genética de cactos colunares ao polinizador principal, os morcegos, que percorrem longas distâncias (NASSAR et al, 2003; OTERO-ARNAIZ, 2005). A baixa variabilidade genética encontrada no cacto globoso *Melocactus* pode ser devido a vários fatores, dentre eles o grande volume de coleta da espécie pelo homem associado a um recente efeito gargalo. A dispersão da semente de *Melocactus* é mais local, sendo realizada por lagartos e formigas e o fluxo gênico é baixo, pois no gênero é típica a polinização por beija flores os quais têm comportamento territorialista, limitando o fluxo gênico (LAMBERT et al, 2006a).

As espécies do gênero *Rhipsalis* são polinizadas predominantemente por insetos (BOENI, 2007) fato que pode explicar a ausência de variabilidade genética interpopulacional das espécies (OTERO-ARNAIZ, 2003; 2005).

Todavia, existem registros indicando que a dispersão de sementes em *Rhipsalis* ocorre predominantemente por aves (LOMBARDI & JUNIOR, 1995; BOENI, 2007), mas outros estudos são necessários para se analisar o efeito da frugivoria na dispersão de *Rhipsalis*.

Cariaga et al (2005) analisaram, a partir de marcadores ISSR, as únicas duas populações da Cactaceae *Consolea callicola*, uma das espécies de plantas mais ameaçadas de extinção nos EUA. Dos 64 *loci* de ISSR analisados, apenas quatro foram polimórficos, sendo que essa variabilidade somente foi encontrada entre as populações, dentro delas não encontraram variabilidade genética. Os autores associaram os resultados encontrados com a estratégia reprodutiva da espécie, assexuada, pois um estudo anterior de Negrón-Ortiz (1998) mostrou que *C. corallicola* apresenta uma baixíssima produção de sementes via reprodução sexuada. Estudos empíricos a respeito da produção de sementes em *R. dissimilis* forma *epiphyllanthoides* não são conhecidos e, portanto, análises sobre esse tema são essenciais para a avaliação consistente da variabilidade genética da espécie.

Associada a esses fatores (polinização, dispersão e modo de reprodução), eventos de deriva genética devem ter um papel bastante significativo na estrutura genético-espacial de *R. dissimilis* forma *epiphyllantoides*, pois as duas populações encontram-se isoladas e não apresentam sítios polimórficos a partir das duas regiões do DNA do cloroplasto aqui analisadas, regiões estas que se mostraram muito variáveis para várias famílias de angiospermas (AUTORES0).

A investigação dos processos ecológicos associados a esta espécie e análise de outros marcadores moleculares que tenham taxas evolutivas mais rápidas, tais como os marcadores ISSR, são de suma importância para auxiliar em futuros programas de conservação desta espécie, que ocorre em poucas populações conhecidas, em áreas de preservação natural.

6 CONCLUSÃO

As populações de *R. dissimilis* forma *epiphyllanthoides* apresentaram diferenças na morfoanatomia, que podem ser correlacionadas às diferentes condições de pluviosidade, insolação e umidade relativa de cada localidade, em especial os indivíduos do Parque Estadual do Guartelá, provavelmente por estarem expostos a condições ambientais de maior temperatura e precipitação. As diferenças morfológicas encontradas podem ser atribuídas à alta plasticidade fenotípica da espécie, que é bastante sensível às diferenças climáticas de cada área estudada, se levarmos em conta a ausência de variabilidade genética encontrada entre e dentro das populações para os marcadores utilizados. Outros estudos relacionados à reprodução, fatores ecológicos associados e outros marcadores moleculares devem ser realizados para futuros programas de manejo da espécie.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDERSON, E. **The cactus family**. Timber Press, Portland, Oregon. 2001.

AUBIN-HORTH,N.;RENN,S.P.C. Genomic reaction norms: using integrative biology to understand molecular mechanisms of phenotypic plasticity. **Molecular Ecology** 18: 3763–3780, 2009.

AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.A.S. **BioEstat 5.0.: aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Biomédicas**. Sociedade Civil Mamirauá: Belém, Pará-Brasil. 2007.

BAKER, M. A.; JOHSON ,R. A. Morphometric Analysis of *Escobaria sneedii* var. *sneedii*,*E. sneedii* var. *leei*,and *E. guadalupensis* (Cactaceae). **Systematic Botany**. 25:577-587, 2000.

BARTHLOTT, W. S.; POREMSKI, M.; KLUGE, J.; HOPKE & L. SCHMIDT. *Selenicereus wittii* (Cactaceae): An epiphyte adapted to Amazonian Igapo inundation forests. **Pl. Syst. Evol.** 206: 175-185. 1997.

BOEGER, T.R.M.; SOFFIATTI, P.; SOUTO, G.A.M. ;BUDCHEN, M.; BAGATINI, P.K.; FORNO, D.M.; Functional morphology of two *Lepismium* species (Rhipsalideae, Cactaceae). **Revista Mexicana de Biodiversidad**. 81: 393-400, 2010.

BOENI,B,O.;PIZO, M.A.; Distribuição vertical, fenologia e frugivoria de *Rhipsalis teres* (Cactaceae). **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil**, 2007.

CARMO, M.R.B. **Caracterização fitofisionômica do Parque Estadual do Guartelá, município de Tibagi, estado do Paraná**. Tese (doutorado). Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, São Paulo. 2006

CALVENTE, A. M.; ANDREATA, R. H. P.; VIEIRA, R. C. 2008. Stem anatomy of *Rhipsalis* (Cactaceae) and its relevance for taxonomy. **Plant Systematic and Evolution**. 276, 1-2 , 2008.

CALVENTE,A. **Filogenia molecular, evolução e sistemática de *Rhipsalis* (Cactaceae)**.Tese (Doutorado).Instituto de Biociências de São Paulo. 2010.

CASAS, A.; CABALLERO, J.; VALIENTE-BANUET, A.; SORIANO, J. A.; DÁVILA,P. Morphological variation and the process of domestication of *Stenocereus stellatus* (Cactaceae) in central Mexico. **American Journal of Botany** 86: 522–533, 1999.

CARIAGA, K. A.; LEWIS, C. E.; MASCHINSKI, J. WRIGHT, S. J.; FRANCISCO-ORTEGA,J. Patterns of Genetic Diversity in the Critically Endangered Florida Key Endemic *Consolea corallicola* Small (Cactaceae): Evidence from Inter-Simple Sequence Repeat (ISSRs) DNA Polymorphisms. **Caribbean Journal of Science**. 41: 225-233, 2005.

DETTKE, G. A.; MILANEZE-GUTIERRE, M. A. Anatomia caulinar de species epifitas de Cactaceae, subfamília Cactoideae. **Hoehnea**. 35: 583-595, 2008.

DONOHUE, K. Setting the stage: plasticity as habitat selection. **Int. J. Plant Sci**. 164: 79–92, 2003.

DONOHUE, K. Niche construction through phenological plasticity: life history dynamics and ecological consequences. **New Phytol**.166: 83–92, 2005.

DUNN, I.S.; BLATTNER, F. R. Sharons 36 to 40: Multi-enzyme, high capacity, recombination deficient replacement vectors with polylinkers and polystuffers. **Nucleic Acids Research**. 15: 2677-2698.1986.

EGGLI, U. Stomatal types of Cactaceae. **Plant Systematics and Evolution** 146: 197-214. 1984.

ESAU, K.. **Plant Anatomy**. 2nd ed. Tokyo,Toppan Printing. 1960.

FAHN, A.; CUTLER, D. F. **Xerophytes**. Gebruder Borntraeger. Berlin & Stuttgart. 1992.

FIGUEIREDO, C . J. ; NASSAR , J. M.; GARCÍA-RIVAS, A. E. ; GONZÁLEZ-CARCACÍA, J .A. Population genetic diversity and structure of *Pilosocereus tillianus* (Cactaceae,Cereeae), a columnar cacti endemic to the Venezuelan Andes. **Journal of Arid Environments** 74: 1392-1398, 2010.

GARCIA, S. L .F. P. **Morfologia funcional de duas espécies epífitas de Cactaceae**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná. 2011.

GIBSON, A. C.; HORAK, K. E. Systematic anatomy and phylogeny of Mexican columnar cacti. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 65: 999-1057. 1978.

GIBSON, A. C.; NOBEL, P. S. **The Cactus primer**. Harvard University Press, Cambridge. 1986.

HALL, T. A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucl. Acids. Symp.** 41: 95-98. 1999.

HAMMER, Ø., HARPER, DAT. and RYAN PD., 2003. **Paleontological Statistics – PAST**. Version 1.18. [07/05/2003]. Available from: <<http://folk.uio.no/ohammer/past>>

HELSEN, P.; VERDYCK, P.; TYE, A.; VAN DONGEN, S. Low levels of genetic differentiation between *Opuntia echios* varieties on Santa Cruz (Galapagos). **Plant Systematics and Evolution** 279:1–10. 2009.

HETHERINGTON, A ; WOODWARD, F. The role of stomata in sensing and driving environmental change. **Nature**, 424: 901-908. 2003.

IAP. **Plano de manejo do Parque Estadual de Vila Velha**. Curitiba: Instituto Ambiental do Paraná, 2004.

IAPAR. **Dados meteorológicos referente aos anos de 1954 a 2001 para o município de Ponta Grossa e 1976 a 2009 para o município de Telêmaco Borba**. Disponível em < [http:// www.iapar.br/arquivos/image/monitoramento](http://www.iapar.br/arquivos/image/monitoramento)>. Acessado em 13 de julho de 2011.

LAMBERT, S.; BORBA, E.; MACHADO, M.; ANDRADE, S.C.S. Allozyme diversity and morphometrics of *Melocactus paucispinus* (Cactaceae) and evidence for hybridization with *M.concinnus* in the Chapada Diamantina, North-eastern Brazil. **Annals of Botany** 97: 389–403, 2006a.

LAMBERT, S.; BORBA, E.; MACHADO, M. Allozyme diversity and morphometrics of the endangered *Melocactus glaucescens* (Cactaceae), and investigation of the putative hybrid origin of *Melocactus x albicephalus* (*Melocactus ernestii* x *Melocactus glaucescens*) in north-eastern Brazil. **Plant Species Biology** 21: 93–108 .2006b.

LOMBARDI, J. A.; JUNIOR, J. C. M. Possibilidade de dispersão endoornitórica das sementes de *Rhipsalis* (Cactaceae). **Ararajuba**. 3 61-62,1995.

LOZA-CORNEJO, S.; TERRAZAS, T. Epidermal and hypodermal characteristics in North American Cactoideae (Cactaceae). **Journal of Plant Research**. 116: 27-35. 2003.

MAACK, R. **Geografia Física do Paraná**. 3ªed. Curitiba: Imprensa Oficial. 2002.

MAJURE, L. **The ecology and morphological variation of *Opuntia* (Cactaceae) spp in the mid-south, United States**. Degree of Master of Science. Faculty of Mississippi State University. 2007.

MAUSETH, J. D. Systematic anatomy of the primitive cereoid cactus *Leptocereus quadricostatus*. **Bradleya** 6: 49-64. 1988.

MAUSETH, J. D. Comparative structure-function studies within a strongly dimorphic plant, *Melocactus intortus* (Cactaceae). **Bradleya**. 7: 1-12. 1989.

MAUSETH, J D.; SAJEVA, M. Cortical Bundles in the Persistent, Photosynthetic Stems of Cacti. **Annals of Botany**. 70: 317-324. 1992.

MAUSETH, J. D.. Structure-function relationships in highly modified shoots of Cactaceae. **Annals of Botany** 98:901-926. 2006.

MINER, B. G. ; SULTAN, S. E.; MORGAN,S.G.;PADILLA,D.K.; RELYEA, R.A. Ecological consequences of phenotypic plasticity. **Trends in Ecology and Evolution**, 20: 685-692 , 2005.

NASSAR, J. M.; HAMRICK, J. L.; FLEMING, T. H. Genetic variation and population structure of the mixed-mating cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). **Heredity** 87: 69-79, 2001.

NASSAR, J. M.; HAMRICK, J. L.; FLEMING, T .H. Allozyme diversity and genetic structure of the leafy cactus *Pereskia guamacho* [Cactaceae]. **The American Genetic Association** 93:193–200, 2002.

NASSAR,J.M.;HAMRICK,J.L.;FLEMING,T.H.Population genetic structure of Venezuelan chiropterophilous columnar cacti (Cactaceae) **American Journal of Botany** 90(11): 1628–1637. 2003.

ODLING-SMEE, F.J. et al. Niche construction. **Am. Nat.** 147,641–648 ,1996.

OLIVEIRA, V.C.; SAJO, M.G.. Anatomia foliar de espécies epífitas de Orchidaceae. **Revista Brasileira de Botânica** 22: 365-374.1999.

OTERO-ARNAIZ, A. ; CASAS. A. ; BARTOLO ,C . ; PÉREZ-NEGRÓN ,E . ; VALIENTE-BANUET , A. Evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, central Mexico: Reproductive biology. **American Journal of Botany** 90(4): 593–602. 2003.

OTERO-ARNAIZ, A.; CASAS, A.; HAMRICK J.L.;CRUSE-SANDERS,J. Genetic variation and evolution of *Polaskia chichipe* (Cactaceae) under domestication in the Tehuacán Valley, central Mexico. **Molecular Ecology** 14, 1603–1611. 2005.

PIGLIUCCI, M.; MURREN, C.;SCHLICHTING,C. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. **The Journal of Experimental Biology**. The Company of Biologists, 209, 2362-2367, 2006.

RAVEH, E.; NERD, A.; MIZRAHI, Y. Responses of two hemiepiphytic fruit crop cacti to different degrees of shade. **Scientia Horticulturae**. 73:151–164, 1998.

ROY, A.; FRASCARIA, N.; MACKAY, J.; BOUSQUET, J. Segregating random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) in *Betula alleghaniensis*. **Theor Appl Genet**. 85: 173-180. 1992.

SIMEPAR. **Dados meteorológicos referentes aos anos de 2000 a 2010 dos municípios de Ponta Grossa e Telêmaco Borba**. 2011.

SCHLICHTING, C.D. The evolution of phenotypic plasticity in plants. **Annu. Rev. Ecol. Syst.** 17: 667–693, 1986.

SINCLAIR R. Water relations in orchids.In: J.Arditti (ed.). **Orchid Biology: reviews and perspectives**. London, Cornell University. 1990.

SOFFIATTI, P.; ANGYALOSSY, V. Anatomy of Brazilian Cereeae (subfamily Cactoideae, tribe Cereeae): *Arrojadoa*, *Stephanocereus* and *Brasilicereus*. **Acta Botanica Brasilica** 21: 813-822. 2007.

SOFFIATTI, P.; ANGYALOSSY, V. Increased water storage capacity in cactus wood: a study in the tribe Cereeae (Cactoideae, Cactaceae). **Haseltonia**. 15: 1-6. 2009.

SULTAN, S.E. Evolutionary implications of phenotypic plasticity in plants. **Evol. Biol.** 21: 127–178, 1987.

TAYLOR, N. P. Cactaceae. In **Cactus and Succulent Plants. Status Survey and Conservation Action Plan. Compiled by Sara Oldfield**. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK. 1997.

TAYLOR, N. P. & D. C. ZAPPI. **Cacti of eastern Brazil**. The Royal Botanic Garden, Kew, Richmond, U.K. 2004.

TEL-ZUR, N. ; MIZRAHI , Y. ; CISNEROS , A . ; MOUYAL , J . ; SCHNEIDER , B . ; DOYLE , J.J. Phenotypic and genomic characterization of vine cactus collection (Cactaceae). **Genet . Resour. Crop. Evol.** 2010.

TERRAZAS, T.; ARIAS, S. Comparative stem anatomy in the subfamily Cactoideae. **The Botanical Review** 68: 444-473. 2003.

VELOSO, H. P.; RANGEL,F. A. L. R.; LIMA, J. C. A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. IBGE – DERMA, Rio de Janeiro. 1991.

WITHNER, C.L.; NELSON, P.K.; WEJKSNORA, P.J.. The anatomy of orchids. In: C.L. Wither. **The Orchids Cientific Studies**. New York, John Wiley, 1974.

8 ANEXOS

- ALINHAMENTO DAS SEQUÊNCIAS OBTIDAS PELO ESPAÇADOR INTERGÊNICO PLASTIDIAL *psbA-trnH*

INDIVÍDUOS:

HQ727750.1: *Rhipsalis dissimilis* voucher Calvente 401, espaçador intergênico *psbA-trnH*.

FN669047.1: *Rhipsalis dissimilis* f. *epiphyllanthoides*, espaçador intergênico *psbA-trnH*.

FN669048.1: *Rhipsalis dissimilis* f. *dissimilis*, espaçador intergênico *psbA-trnH*. B1 à B17: Indivíduos da população do Parque Estadual do Guartelá do presente trabalho.

111,113,114,116,212,213,214,215,219,313,315,316,318,319,3111: Indivíduos da população do Parque Estadual de Vila Velha do presente trabalho.

	5	15	25	35	45	55
HQ727750.1	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
FN669047.1	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
FN669048.1	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B1	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B2	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B3	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B4	NTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B5	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B6	GNAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B7	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B8	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B9	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B10	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B11	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B12	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B13	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B15	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B16	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
B17	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
111	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
113	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
116	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
212	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
213	NTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
214	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
215	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
219	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
313	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
315	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
316	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
319	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
318	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG
3111	GTAAGGGGGC	AATACCTGTT	TCTCGACAGA	CCAAGAAATT	GGTTATTGCT	TCTTTACTAG

	65	75	85	95	105	115
HQ727750.1	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
FN669047.1	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
FN669048.1	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
B1	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
B2	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
B3	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
B4	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
B5	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
B6	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
B7	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
B8	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
B9	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
B10	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
B11	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT

B12	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
B13	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
B15	TTAGTCTTTT	TTTTTTTANN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
B16	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
B17	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
1I1	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
1I3	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
1I6	NNNNNNTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
2I2	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
2I3	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
2I4	NNNNNNTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
2I5	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
2I9	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
3I3	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
3I5	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
3I6	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
3I9	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT
3I8	TTAGTCTTTT	TTTTTTTANN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
3I11	TTAGTCTTTT	TTTTTTTATT	TATTAGTATA	AAACGTATAA	ATTTTTATTT	AGTATGAAAT

	125	135	145	155	165	175
HQ727750.1	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
FN669047.1	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
FN669048.1	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTATAATAAC	TTTTTGAGTT	TTCAGGGATC
B1	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGANC
B2	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
B3	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGANC
B4	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
B5	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
B6	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATN
B7	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGANC
B8	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
B9	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
B10	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGNNN
B11	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
B12	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
B13	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
B15	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
B16	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGANC
B17	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
1I1	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
1I3	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATN
1I6	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
2I2	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
2I3	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
2I4	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
2I5	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
2I9	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
3I3	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
3I5	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
3I6	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
3I9	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC
3I8	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
3I11	GATTCTATAT	GATATCTTCT	TTTTCACTTT	TTCTAATAAC	TTTTTTAGTT	TTCAGGGATC

	185	195	205	215	225	235
HQ727750.1	CAC TTGAAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CAATAAAGAA	CTAATTATGA
FN669047.1	CAC TTGAAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CAATAAAGAA	CTAATTATGA
FN669048.1	CAC TTGAAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CAATAAAGAA	CTAATTATGA
B1	CNCTTNAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CNNTNNNNNA	CTAATTATGA
B2	CNCTTGAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CNNTAAAGAA	CTAATTATGA
B3	CNCTTGAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CNNTNNNNNA	CTAATTATGA
B4	CAC TTGAAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CNNTAAAGAA	CTAATTATGA
B5	CNCTTGAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CNNTAAAGAA	CTAATTATGA
B6	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
B7	CNCTTGAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CNNTNNNNNA	CTAATTATGA
B8	CNCTTNAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CNNTNNNNNA	CTAATTATGA
B9	CAC TTGAAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CAATAAAGAA	CTAATTATGA
B10	NNNNNNNAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CNNTAAAGAA	CTAATTATGA
B11	CNCTTNAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CNNTNNNNNA	CTAATTATGA
B12	CNCTTNAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CNNTNNNNNA	CTAATTATGA
B13	CAC TTGAAAT	GTTGAATTC	AATTAAGAAT	TTATCAAAGG	CAATAAAGAA	CTAATTATGA
B15	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN


```

B16      CNCTTNAAT  GTTGAATTC  AATTAAGAAT  TTATCAAAGG  CNNTNNNNNA  CTAATTATGA
B17      CNCTTGAAAT  GTTGAATTC  AATTAAGAAT  TTATCAAAGG  CNNTAAAGAA  CTAATTATGA
1I1      CNCTTGAAAT  GTTGAATTC  AATTAAGAAT  TTATCAAAGG  CNNTNNNNNA  CTAATTATGA
1I3      NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN
1I6      CACTTGAAAT  GTTGAATTC  AATTAAGAAT  TTATCAAAGG  CNNTAAAGAA  CTAATTNNNN
2I2      CACTTGAAAT  GTTGAATTC  AATTAAGAAT  TTATCNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN
2I3      CACTTGAAAT  GTTGAATTC  AATTAAGAAT  TTATCAAAGG  CAATAAAGAA  CTAATTATGA
2I4      CACTTGAAAT  GTTGAATTC  AATTAAGAAT  TTATCAAAGG  CNNTAAAGAA  CTAATTATGA
2I5      CACTTGAAAT  GTTGAATTC  AATTAAGAAT  TTATCAAAGG  CAATAAAGAA  CTAATTATGA
2I9      CNCTTGAAAT  GTTGAATTC  AATTAAGAAT  TTATCAAAGG  CNNTNNNGAA  CTAATTATGA
3I3      CACTTGAAAT  GTTGAATTC  AATTAAGAAT  TTATCAAAGG  CAATAAAGAA  CTAATTATGA
3I5      CACTTGAAAT  GTTGAATTC  AATTAAGAA  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN
3I6      CACTTGAAAT  GTTGAATTC  AATTAAGAAT  TTATCAAAGG  CAATAAAGAA  CTAATTATGA
3I9      CACTTGAAAT  GTTGAATTC  AATTAAGAAT  TTATCAAAGG  CNNTNNNNNA  CTAATTATGA
3I8      NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN
3I11     CACTTGAAAT  GTTGAATTC  AATTAAGAAT  TTATCAAAGG  CAATAAAGAA  CTAATTATGA

```

```

      ....|....|  ....|....|  ....|....|  ....|..
      245      255      265      275
HQ727750.1  ATAGTTTCGT  TTTCAANNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNN
FN669047.1  ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
FN669048.1  ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
B1          ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
B2          ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
B3          ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
B4          ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
B5          ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
B6          NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNN
B7          ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
B8          ATAGTTTCGN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNN
B9          NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNN
B10         ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
B11         ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
B12         ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
B13         ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
B15         NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNN
B16         ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
B17         ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
1I1         ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  NNNNNNNNNN  NNNNNNNN
1I3         NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNN
1I6         NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNN
2I2         NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNN
2I3         ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
2I4         ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
2I5         ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
2I9         ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..
3I3         ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAANNNNN  NNNNNNN.
3I5         NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNN
3I6         ATAGTTTCGT  TTTCAAGNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNN
3I9         ATAGTTTNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNN
3I8         NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNNNN  NNNNNNNN
3I11        ATAGTTTCGT  TTTCAAGAAA  CAAAATGGTA  AAGGG..

```

• ALINHAMENTO DAS SEQUÊNCIAS OBTIDAS PELO ESPAÇADOR INTERGÊNICO PLASTIDIAL
trnS-trnG

	5	15	25	35	45	55
B8	-NNNNNNNNN	NNNNNNNNN	NNNNNNNNN	NNNNNNNNN	NNNNNNNNN	NNNNNNNNN
B9	GGAATCNTAG	ATGGACTACA	ATACTAACTA	TAAGAAGATC	AAATTGAATC	TCAAATATTT
b11	-NNNNNNNNN	NTGGACTACA	ATACTAACTA	TAAGAAGATN	NAATTGAATC	TCAAATATTT
1i14	GGAATCATAG	ATGGACTACA	ATACTAACTA	TAAGAAGATC	AAATTGAATC	TCAAATATTT
2i2	-NAATCATAG	ATGGACTACA	ATACTAACTA	TAAGAAGATC	AAATTGAATC	TCAAATATTT
2I5	GGAATCATAG	ATGGACTACA	ATACTAACTA	TAAGAAGATC	AAATTGAATC	TCAAATATTT
2I9	GGAATCATAG	ATGGACTACA	ATACTAACTA	TAAGAAGATC	AAATTGAATC	TCAAATATTT
3i5	-NNNTCATAG	ATGGACTACA	ATACTAACTA	TAAGAAGATC	AAATTGAATC	TCAAATATTT
3I8	-GAATCATAG	ATGGACTACA	ATACTAACTA	TAAGAAGATC	AAATTGAATC	TCAAATATTT
3i11	-GAATCATAG	ATGGACTACA	ATACTAACTA	TAAGAAGATC	AAATTGAATC	TCAAATATTT

	65	75	85	95	105	115
B8	NNNNNNNNNG	ATTTTTCCCTT	TANACGATCA	ATAAATCCAT	AATCTTTAGC	TTCTATTGCT
B9	TGCTTTTTAG	ATTTTTCCCTT	TATACGATCA	ATAAATCCAT	AATCTTTAGC	TTCTATTGCT
b11	TGCTTTTTAG	ATTTTTCCCTT	TATACGATCA	ATAAATCCAT	AATCTTTAGC	TTCTATTGCT
1i14	TGCTTTTTAG	ATTTTTCCCTT	TATACGATCA	ATAAATCCAT	AATCTTTAGC	TTCTATTGCT
2i2	TGCTTTTTAG	ATTTTTCCCTT	TATACGATCA	ATAAATCCAT	AATCTTTAGC	TTCTATTGCT
2I5	TGCTTTTTAG	ATTTTTCCCTT	TATACGATCA	ATAAATCCAT	AATCTTTAGC	TTCTATTGCT
2I9	TGCTTTTTAG	ATTTTTCCCTT	TATACGATCA	ATAAATCCAT	AATCTTTAGC	TTCTATTGCT
3i5	TGCTTTTTAG	ATTTTTCCCTT	TATACGATCA	ATAAATCCAT	AATCTTTAGC	TTCTATTGCT
3I8	TGCTTTTTAG	ATTTTTCCCTT	TATACGATCA	ATAAATCCAT	AATCTTTAGC	TTCTATTGCT
3i11	TGCTTTTTAG	ATTTTTCCCTT	TATACGATCA	ATAAATCCAT	AATCTTTAGC	TTCTATTGCT

	125	135	145	155	165	175
B8	GACATATAAA	AATCTCTTTC	CAGATCTTGG	GATATAATCC	AGAGGGGTTT	GCCCGTTCTT
B9	GACATATAAA	AATCTCTTTC	CAGATCTTGG	GATATAATCC	AGAGGGGTTT	GCCCGTTCTT
b11	GACATATAAA	AATCTCTTTC	CAGATCTTGG	GATATAATCC	AGAGGGGTTT	GCCCGTTCTT
1i14	GACATATAAA	AATCTCTTTC	CAGATCTTGG	GATATAATCC	AGAGGGGTTT	GCCCGTTCTT
2i2	GACATATAAA	AATCTCTTTC	CAGATCTTGG	GATATAATCC	AGAGGGGTTT	GCCCGTTCTT
2I5	GACATATAAA	AATCTCTTTC	CAGATCTTGG	GATATAATCC	AGAGGGGTTT	GCCCGTTCTT
2I9	GACATATAAA	AATCTCTTTC	CAGATCTTGG	GATATAATCC	AGAGGGGTTT	GCCCGTTCTT
3i5	GACATATAAA	AATCTCTTTC	CAGATCTTGG	GATATAATCC	AGAGGGGTTT	GCCCGTTCTT
3I8	GACATATAAA	AATCTCTTTC	CAGATCTTGG	GATATAATCC	AGAGGGGTTT	GCCCGTTCTT
3i11	GACATATAAA	AATCTCTTTC	CAGATCTTGG	GATATAATCC	AGAGGGGTTT	GCCCGTTCTT

	185	195	205	215	225	235
B8	TCGGAATAAA	CCCTTGTGAT	GGTTTCTCTG	ATACTTATAA	TTCCTTCTAA	TTCACTGTAA
B9	TCGGAATAAA	CCCTTGTGAT	GGTTTCTCTG	ATACTTATAA	TTCCTTCTAA	TTCACTGTAA
b11	TCGGAATAAA	CCCTTGTGAT	GGTTTCTCTG	ATACTTATAA	TTCCTTCTAA	TTCACTGTAA
1i14	TCGGAATAAA	CCCTTGTGAT	GGTTTCTCTG	ATACTTATAA	TTCCTTCTAA	TTCACTGTAA
2i2	TCGGAATAAA	CCCTTGTGAT	GGTTTCTCTG	ATACTTATAA	TTCCTTCTAA	TTCACTGTAA
2I5	TCGGAATAAA	CCCTTGTGAT	GGTTTCTCTG	ATACTTATAA	TTCCTTCTAA	TTCACTGTAA
2I9	TCGGAATAAA	CCCTTGTGAT	GGTTTCTCTG	ATACTTATAA	TTCCTTCTAA	TTCACTGTAA
3i5	TCGGAATAAA	CCCTTGTGAT	GGTTTCTCTG	ATACTTATAA	TTCCTTCTAA	TTCACTGTAA
3I8	TCGGAATAAA	CCCTTGTGAT	GGTTTCTCTG	ATACTTATAA	TTCCTTCTAA	TTCACTGTAA
3i11	TCGGAATAAA	CCCTTGTGAT	GGTTTCTCTG	ATACTTATAA	TTCCTTCTAA	TTCACTGTAA

	245	255	265	275	285	295
B8	AGTAGTCCTG	CCATGTCTTC	GTCGTCGTCC	TCCGGAAAAA	CAAAATTGCA	AGCAGGTTGA
B9	AGTAGTCCTG	CCATGTCTTC	GTCGTCGTCC	TCCGGAAAAA	CAAAATTGCA	AGCAGGTTGA
b11	AGTAGTCCTG	CCATGTCTTC	GTCGTCGTCC	TCCGGAAAAA	CAAAATTGCA	AGCAGGTTGA
1i14	AGTAGTCCTG	CCATGTCTTC	GTCGTCGTCC	TCCGGAAAAA	CAAAATTGCA	AGCAGGTTGA
2i2	AGTAGTCCTG	CCATGTCTTC	GTCGTCGTCC	TCCGGAAAAA	CAAAATTGCA	AGCAGGTTGA
2I5	AGTAGTCCTG	CCATGTCTTC	GTCGTCGTCC	TCCGGAAAAA	CAAAATTGCA	AGCAGGTTGA
2I9	AGTAGTCCTG	CCATGTCTTC	GTCGTCGTCC	TCCGGAAAAA	CAAAATTGCA	AGCAGGTTGA
3i5	AGTAGTCCTG	CCATGTCTTC	GTCGTCGTCC	TCCGGAAAAA	CAAAATTGCA	AGCAGGTTGA
3I8	AGTAGTCCTG	CCATGTCTTC	GTCGTCGTCC	TCCGGAAAAA	CAAAATTGCA	AGCAGGTTGA
3i11	AGTAGTCCTG	CCATGTCTTC	GTCGTCGTCC	TCCGGAAAAA	CAAAATTGCA	AGCAGGTTGA

	305	315	325	335	345	355
B8	TGAATCATTA	TCCTAGCGTG	AGGGAATGCT	ATACGTTTTT	TATATGTTCC	TCCGACCAAG
B9	TGAATCATTA	TCCTAGCGTG	AGGGAATGCT	ATACGTTTTT	TATATGTTCC	TCCGACCAAG

b11	TGAATCATT	TCCTAGCGTG	AGGGAATGCT	ATACGTTTTT	TATATGTTCC	TCCGACCAAG
1i14	TGAATCATT	TCCTAGCGTG	AGGGAATGCT	ATACGTTTTT	TATATGTTCC	TCCGACCAAG
2i2	TGAATCATT	TCCTAGCGTG	AGGGAATGCT	ATACGTTTTT	TATATGTTCC	TCCGACCAAG
2I5	TGAATCATT	TCCTAGCGTG	AGGGAATGCT	ATACGTTTTT	TATATGTTCC	TCCGACCAAG
2I9	TGAATCATT	TCCTAGCGTG	AGGGAATGCT	ATACGTTTTT	TATATGTTCC	TCCGACCAAG
3i5	TGAATCATT	TCCTAGCGTG	AGGGAATGCT	ATACGTTTTT	TATATGTTCC	TCCGACCAAG
3I8	TGAATCATT	TCCTAGCGTG	AGGGAATGCT	ATACGTTTTT	TATATGTTCC	TCCGACCAAG
3i11	TGAATCATT	TCCTAGCGTG	AGGGAATGCT	ATACGTTTTT	TATATGTTCC	TCCGACCAAG

	365	375	385	395	405	415
B8	ACATAAGATG	CTATTGAAGC	AGCTATCCCT	AGGCATATTG	TATTTATATG	GGGTGGGATA
B9	ACATAAGATG	CTATTGAAGC	AGCTATCCCT	AGGCATATTG	TATTTATATG	GGGTGGGATA
b11	ACATAAGATG	CTATTGAAGC	AGCTATCCCT	AGGCATATTG	TATTTATATG	GGGTGGGATA
1i14	ACATAAGATG	CTATTGAAGC	AGCTATCCCT	AGGCATATTG	TATTTATATG	GGGTGGGATA
2i2	ACATAAGATG	CTATTGAAGC	AGCTATCCCT	AGGCATATTG	TATTTATATG	GGGTGGGATA
2I5	ACATAAGATG	CTATTGAAGC	AGCTATCCCT	AGGCATATTG	TATTTATATG	GGGTGGGATA
2I9	ACATAAGATG	CTATTGAAGC	AGCTATCCCT	AGGCATATTG	TATTTATATG	GGGTGGGATA
3i5	ACATAAGATG	CTATTGAAGC	AGCTATCCCT	AGGCATATTG	TATTTATATG	GGGTGGGATA
3I8	ACATAAGATG	CTATTGAAGC	AGCTATCCCT	AGGCATATTG	TATTTATATG	GGGTGGGATA
3i11	ACATAAGATG	CTATTGAAGC	AGCTATCCCT	AGGCATATTG	TATTTATATG	GGGTGGGATA

	425	435	445	455	465	475
B8	AATTCCATAA	CATTATATAT	GGCCATCCCG	TTTATTATCT	CTCCTCCTGG	AGAATTTATA
B9	AATTCCATAA	CATTATATAT	GGCCATCCCG	TTTATTATCT	CTCCTCCTGG	AGAATTTATA
b11	AATTCCATAA	CATTATATAT	GGCCATCCCG	TTTATTATCT	CTCCTCCTGG	AGAATTTATA
1i14	AATTCCATAA	CATTATATAT	GGCCATCCCG	TTTATTATCT	CTCCTCCTGG	AGAATTTATA
2i2	AATTCCATAA	CATTATATAT	GGCCATCCCG	TTTATTATCT	CTCCTCCTGG	AGAATTTATA
2I5	AATTCCATAA	CATTATATAT	GGCCATCCCG	TTTATTATCT	CTCCTCCTGG	AGAATTTATA
2I9	AATTCCATAA	CATTATATAT	GGCCATCCCG	TTTATTATCT	CTCCTCCTGG	AGAATTTATA
3i5	AATTCCATAA	CATTATATAT	GGCCATCCCG	TTTATTATCT	CTCCTCCTGG	AGAATTTATA
3I8	AATTCCATAA	CATTATATAT	GGCCATCCCG	TTTATTATCT	CTCCTCCTGG	AGAATTTATA
3i11	AATTCCATAA	CATTATATAT	GGCCATCCCG	TTTATTATCT	CTCCTCCTGG	AGAATTTATA

	485	495	505	515	525	535
B8	TACAAACCTA	AATCCTGGGT	ATAATCCTCC	ATACTGAGAT	ATAGCATAAG	ACCCATAAGG
B9	TACAAACCTA	AATCCTGGGT	ATAATCCTCC	ATACTGAGAT	ATAGCATAAG	ACCCATAAGG
b11	TACAAACCTA	AATCCTGGGT	ATAATCCTCC	ATACTGAGAT	ATAGCATAAG	ACCCATAAGG
1i14	TACAAACCTA	AATCCTGGGT	ATAATCCTCC	ATACTGAGAT	ATAGCATAAG	ACCCATAAGG
2i2	TACAAACCTA	AATCCTGGGT	ATAATCCTCC	ATACTGAGAT	ATAGCATAAG	ACCCATAAGG
2I5	TACAAACCTA	AATCCTGGGT	ATAATCCTCC	ATACTGAGAT	ATAGCATAAG	ACCCATAAGG
2I9	TACAAACCTA	AATCCTGGGT	ATAATCCTCC	ATACTGAGAT	ATAGCATAAG	ACCCATAAGG
3i5	TACAAACCTA	AATCCTGGGT	ATAATCCTCC	ATACTGAGAT	ATAGCATAAG	ACCCATAAGG
3I8	TACAAACCTA	AATCCTGGGT	ATAATCCTCC	ATACTGAGAT	ATAGCATAAG	ACCCATAAGG
3i11	TACAAACCTA	AATCCTGGGT	ATAATCCTCC	ATACTGAGAT	ATAGCATAAG	ACCCATAAGG

	545	555	565	575	585	595
B8	TGATTCGATA	TTTCTGTGTT	GATTTCTCGG	CACAAAAAAA	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
B9	TGATTCGATA	TTTCTGTGTT	GATTTCTCGG	CACAAAAAAA	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
b11	TGATTCGATA	TTTCTGTGTT	GATTTCTCGG	CANNNNNNNN	NNNNNNNNNN	NNNNNNNNNN
1i14	TGATTCGATA	TTTCTGTGTT	GATTTCTCGG	CACAAAAAAA	GTATTCTGTT	ACGATGAAGA
2i2	TGATTCGATA	TTTCTGTGTT	GATTTCTCGG	CACAAAAAAA	GTATTCTGTT	ACGATGAAGA
2I5	TGATTCGATA	TTTCTGTGTT	GATTTCTCGG	CACAAAAAAA	GTATTCTGTT	ACGATGAAGA
2I9	TGATTCGATA	TTTCTGTGTT	GATTTCTCGG	CACAAAAAAA	GTATTCTGTT	ACGATGAAGA
3i5	TGATTCGATA	TTTCTGTGTT	GATTTCTCGG	CACAAAAAAA	GTATTCTGTT	ACGATGAAGA
3I8	TGATTCGATA	TTTCTGTGTT	GATTTCTCGG	CACAAAAAAA	GTATTCTGTT	ACGATGAAGA
3i11	TGATTCGATA	TTTCTGTGTT	GATTTCTCGG	CACAAAAAAA	GTATTCTGTT	ACGATGAAGA

	605					
B8	NNNNNNNNNN					
B9	NNNNNNNNNN					
b11	NNNNNNNNNN					
1i14	TGGTCTTTT					
2i2	TGGTCTTTT					
2I5	TGGTCTTTT					
2I9	TGGTCTTTT					
3i5	TGGTCTTTT					
3I8	TGGTCTTTT					
3i11	TGGTCTTTT					