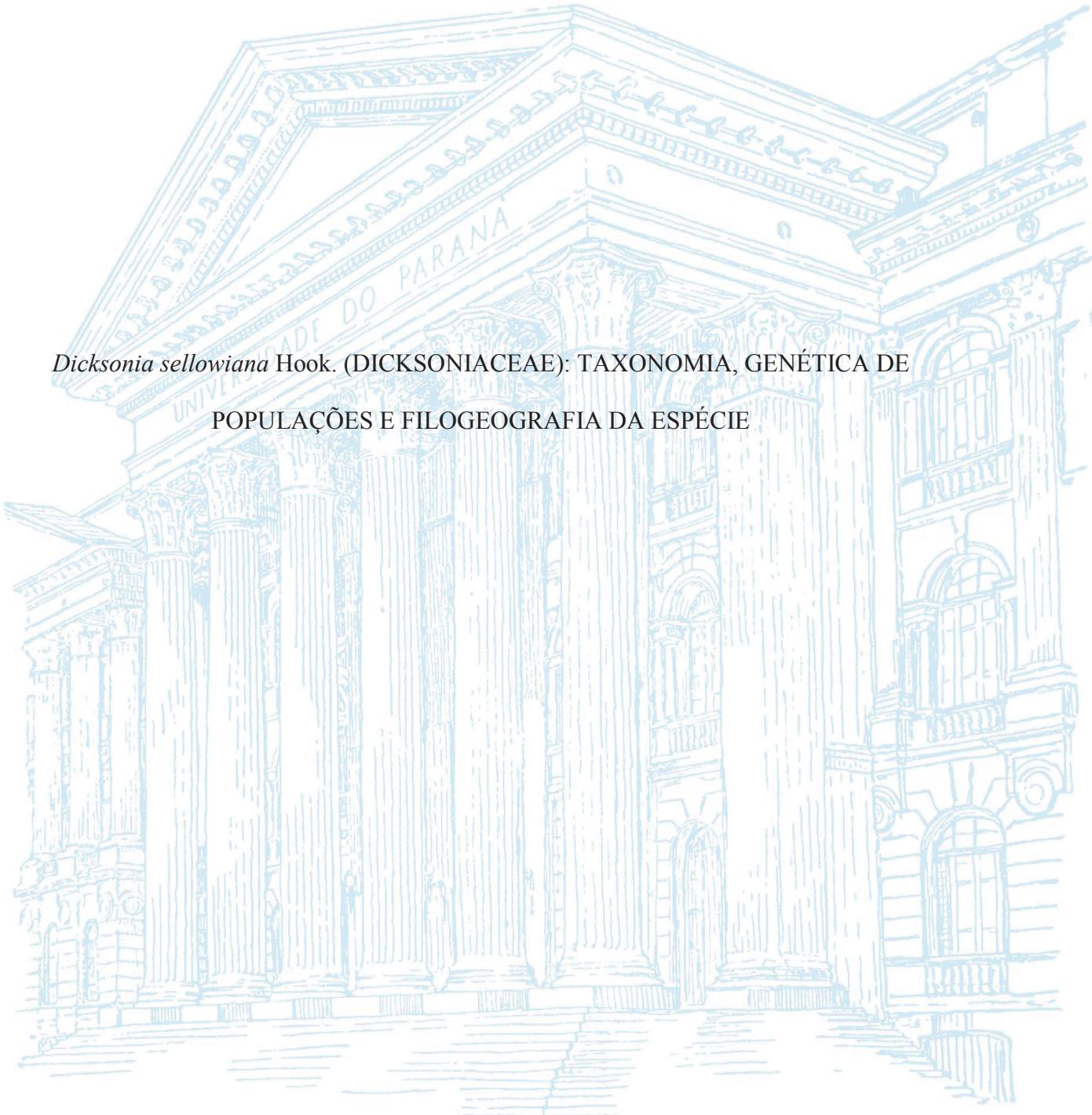
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BRUNA SAVIATTO FAGUNDES



Dicksonia sellowiana Hook. (DICKSONIACEAE): TAXONOMIA, GENÉTICA DE POPULAÇÕES E FILOGEOGRAFIA DA ESPÉCIE

CURITIBA

2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BRUNA SAVIATTO FAGUNDES

Dicksonia sellowiana Hook. (DICKSONIACEAE): TAXONOMIA, GENÉTICA DE POPULAÇÕES E FILOGEOGRAFIA DA ESPÉCIE

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutora em Ecologia e Conservação.

Orientadora: Profª. Drª. Valéria Cunha Muschner

CURITIBA

2018

Universidade Federal do Paraná. Sistema de Bibliotecas.
Biblioteca de Ciências Biológicas.
(Giana Mara Seniski Silva – CRB/9 1406)

Fagundes, Bruna Saviatto
Dicksonia sellowiana Hook. (Dicksoniaceae): taxonomia, genética de populações e filogeografia da espécie. / Bruna Saviatto Fagundes. – Curitiba, 2018.
71 p.: il.

Orientadora: Valéria Cunha Muschner

Tese (doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação.

1. Biodiversidade - Conservação 2. Pteridofita I. Título II. Muschner, Valéria Cunha III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação.

CDD (22. ed.) 587

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **BRUNA SAVIATTO FAGUNDES** intitulada: **"*Dicksonia sellowiana* Hook. (DICKSONIACEAE): TAXONOMIA, GENÉTICA DE POPULAÇÕES E FILOGEOGRAFIA DA ESPÉCIE"**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 17 de Outubro de 2018.

VALÉRIA CUNHA MUSCHNER
Presidente da Banca Examinadora

PAULO ROBERTO DA SILVA
Avaliador Externo

ISABELA GALARDA VARASSIN
Avaliador Interno

WALTER ANTONIO PEREIRA BOEGER
Avaliador Interno

MAURICIO OSVALDO MOURA
Avaliador Interno

AGRADECIMENTOS

Em quatro anos tive a grande oportunidade de conviver com diferentes pessoas e que participaram da minha história. Sou grata a cada uma delas e em especial:

À minha orientadora e amiga, Valéria C. Muschner, pelos quatro anos em que trabalhamos e convivemos juntas. Sou grata por cada aprendizado, científico e pessoal, que tive com você.

À Universidade Federal do Paraná e ao Programa de Pós – Graduação em Ecologia e Conservação, sou grata por me acolherem e me proporcionarem o espaço físico e o convívio com a comunidade acadêmica que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço aos Professores do PPG que modificaram minha visão de fazer ciência, em especial: Walter Boeger e Maurício Moura que me acompanharam desde os primeiros passos na Ecologia e pelo incentivo em todas as etapas deste trabalho.

Agradeço à CAPES pela concessão da bolsa de estudos e à Universidade Estadual do Centro Oeste (Unicentro) onde iniciei minha formação acadêmica e hoje posso atuar como professora, transmitindo meus conhecimentos.

Aos amigos, Jaque, Gui e Guta, do Laboratório de Ecologia Molecular Vegetal, pela troca de experiências e amizade.

Ao professor Paulo Roberto Da Silva e ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular Vegetal (Unicentro) pela oportunidade em realizar uma parte do meu projeto contando com o espaço físico e convívio com os colegas (antigos e novos). Sou grata pela oportunidade em trabalhar com vocês.

Ao professor Adriano Silvério, sou grata pelas suas contribuições e discussões na reta final deste trabalho e por permitir o meu convívio no Laboratório de Botânica Estrutural (Unicentro).

À Tânia M. Moura e André L. Gaglioti, agradeço pela colaboração nas etapas finais da minha tese.

Aos meus grandes amigos Nessana, Dionatan e Wagner pelo companheirismo e pela amizade que construímos ao longo desses anos.

Sou grata à minha família, em especial aos meus pais, que me ensinaram que a maior herança que eles me deixariam é a Educação. Agradeço por terem me incentivado à seguir na carreira acadêmica e me apoiado em todas as etapas da minha formação científica e pessoal. Agradeço à minha afilhada Giovanna por ter cuidado de mim em vários momentos.

O meu agradecimento àquela a quem dedico esta Tese: minha irmã, Xênia. Agradeço por você sempre ter algo a me ensinar. Obrigada por ser minha inspiração e exemplo.

Além de todos os citados acima, muitas pessoas colaboraram com o meu trabalho ao longo desses quatro anos. A você, que em algum momento colaborou com o meu doutorado e, mesmo que não esteja citado aqui (seria injusto pois me faltaria memória para citar tantos nomes), tenha certeza que pensei em você com muita gratidão. Muito obrigada!

RESUMO

O estudo da biodiversidade de biomas considerados como *hotspots* do Neotrópico é a chave para a elaboração de estratégias de conservação. Neste contexto, conhecer a distribuição da variabilidade genética entre e dentro de populações auxilia na compreensão de como os fatores históricos e ambientais influenciam as condições de sobrevivência de uma espécie ameaçada. A *Dicksonia sellowiana* é uma espécie de distribuição disjunta em países da América Central e do Sul do Brasil, pode ser encontrada nas regiões Sudeste e Sul em formações de Floresta Ombrófila Mista (FOM), da Mata Atlântica. Nessa tese, o objetivo principal foi determinar a estruturação populacional e os processos filogeográficos envolvidos na distribuição de *D. sellowiana* do Neotrótico e do Brasil. Com isso, visei compreender a relação da história da distribuição da espécie com outras do gênero *Dicksonia* a partir dos eventos climáticos e geológicos que ocorreram da formação da Mata Atlântica, bem como da região neotropical. No Capítulo I eu apresento a tipificação da variedade *Dicksonia sellowiana* Hook. var. *arachneosa* ainda não designada até o momento a fim de contribuir para a taxonomia de *Dicksonia sellowiana* na América. No Capítulo II, estudei a genética das populações da espécie no Brasil utilizando marcadores SSR. Compreendi que as populações de *D. sellowiana* estão estruturadas geneticamente na Mata Atlântica, de acordo com uma barreira climática determinada pela umidade e influenciada pela latitude. Além disso, apresento uma forte evidência de que as regiões próximas aos vales fluviais no Sul do Brasil correspondem a refúgios florestais que sobreviveram durante o Pleistoceno e garantiram a conservação do *pool* gênico da espécie. E, por fim, no Capítulo III eu apresento um estudo da filogeografia da espécie e do gênero a partir do espaçador intergênico *trnL-trnF* do cpDNA onde identifiquei a riqueza dos haplótipos compartilhados entre *D. sellowiana* e outras espécies do gênero nativas do Neotrópico e da Oceania. O cenário observado reflete a história de origem e distribuição do gênero na América, frente as oscilações climáticas e geológicas que ocorreram durante o processo de formação do continente. Portanto, minha tese contribui para o conhecimento da dinâmica das espécies neotropicais e subsidia medidas de conservação para aprimorar as chances de adaptação de espécies ameaçadas às mudanças do habitat.

Palavras-chaves: Conservação, cpDNA, Estrutura genética, Neotrópico, Pteridophyta, SSR.

ABSTRACT

The study of the biodiversity of biomes considered as hotspots of the Neotropics is the key to the development of conservation strategies. In this context, knowing the distribution of genetic variability among and within populations helps to understand how historical and environmental factors influence the survival conditions of an endangered species. The *Dicksonia sellowiana* is a species of disjoint distribution in Central and South American countries and in Brazil, it can be found in the Southeastern and Southern regions in Araucaria Forest formations. In this thesis, the goal was to determine the population structure and phylogeographic processes involved in the distribution of *D. sellowiana* in Brazil and Neotrotico. With this, I tried to understand the relation of the history of the distribution of the species with others of the genus *Dicksonia* from the climatic and geological events that participated in the formation of the Atlantic Forest, as well as of the neotropical region. In Chapter I, I present the typification of the variety *Dicksonia sellowiana* Hook. *var. arachneosa* has not yet been designated to contribute to the taxonomy of *Dicksonia sellowiana* in America. In Chapter II, I studied the genetics of the species populations in Brazil using SSR markers and understood that the populations of *D. sellowiana* are genetically structured in the Atlantic Forest, according to a climate barrier determined by humidity and influenced by latitude. In addition, I present strong evidence that the regions near the river valleys in southern Brazil correspond to forest refuges that survived during the Pleistocene and ensure the conservation of the species' gene pool. Finally, in Chapter III, I present a study of the phylogeography of the species and genus from the *trnL-trnF* intergenic spacer of the cpDNA, where I identified the richness of the haplotypes shared between *D. sellowiana* and other species of the genus native to Neotropics and Oceania. The observed scenario reflects the history of origin and distribution of the genus in America, in the face of the climatic and geological oscillation that occurred during the process of formation of the continent. Therefore, my thesis contributes to the knowledge of the dynamics of neotropical species and subsidizes conservation measures to improve the chances of adaptation of species threatened by habitat changes.

Key-words: Conservation, cpDNA, Genetic structure, Neotropical, Pteridophyta, SSR.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 4

2 CAPÍTULO I 11

Avoiding ambiguity for the names related to the highly endangered D*icksonia sellowiana* Hook. (Dicksoniaceae) 12

Abstract 12

Introduction 13

Discussion and Lectotypification 13

Acknowledgements 15

Literature Cited 15

3 CAPÍTULO II 17

Historical and climate factors acting over genetic diversity of a threatened fern from a Neotropical hotspot 18

Abstract 18

Introduction 18

Materials and methods 21

Results 23

Discussion 24

References 30

4 CAPÍTULO III 47

Filogeografia de *Dicksonia sellowiana* Hook. (Dicksoniaceae): um estudo de caso da sua história no Neotrópico 48

Resumo 48

Introdução 49

Material e Métodos 52

Resultados 56

Discussão 59

Referências Bibliográficas 63

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS 67

REFERÊNCIAS 69

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os estudos de biodiversidade tem como prioridade conhecer o maior número de espécies e suas relações ecológicas com o meio ambiente a fim de salvaguardar os biomas e viabilizar estratégias de conservação (Pimm *et al.,* 1995; Myers *et al.*, 2000). A compreensão da diversidade genética de espécies nativas e ameaçadas de extinção desses *hotspots* permite conhecer a dinâmica das populações nos ecossistemas e é considerada uma importante ferramenta para a preservação dessas áreas (Myers *et al.*, 2000; CBD, 2016).

A região neotropical é caracterizada por um mosaico de paisagens florestais e formações de campo com alta diversidade biológica e endemismo de espécies (Moritz *et al.,* 2000). A diversificação de espécies no Neotrópico está associada com as mudanças drásticas da vegetação em função das flutuações climáticas que ocorreram durante o Quaternário (~2,5 milhões de anos, M.a.; Hooghiemstra e Van Der Hammen, 1998). Porém, o padrão de origem e distribuição das espécies nessa região depende do grupo taxonômico. A diversificação de alguns táxons da flora e fauna neotropical pode estar relacionada a fatores como soerguimento dos Andes, incursões marinhas na Amazônia e a formação do Istmo do Panamá (Hoorn *et al.,* 1995; Antonelli e Sanmartin, 2011; Cavers *et al.,* 2013; Fine *et al.,* 2014). Deste modo, o Neotrópico sofreu mudanças na paisagem durante as eras geológicas, principalmente durante os ciclos glaciais do Quaternário. Com as oscilações climáticas, as áreas florestais permaneceram refugiadas em áreas úmidas e os estudos filogeográficos têm observado uma descontinuidade genética ao longo da distribuição de vários biomas que pertencem ao Neotrópico (Martins *et al.*, 2015; Carnaval *et al.,* 2014; Alvares-Carvalho et al., 2016; Turchetto-Zolet et al., 2016;). Dentre esses ecossistemas, a Mata Atlântica têm sido alvo de estudos de diversificação e

filogeografia de espécies em função do seu território estar associado a um extenso gradiente latitudinal (Behling, 1997, 2002; Carnaval e Bates, 2007; Carnaval *et al.,* 2014).

O bioma Mata Atlântica é considerado o mais antigo do Brasil e possui 150 milhões de hectares, distribuídos na faixa leste da América do Sul, abrangendo os Estados do Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul e tem como limite leste a costa Atlântica e limite oeste o Estado do Mato Grosso do Sul (Ribeiro *et al.,* 2011). Originalmente, 75% do bioma era coberto por formações arbóreas densas com diferentes estruturas e composições como, por exemplo, a Floresta Ombrófila Mista (FOM). O restante do território da Mata Atlântica era caracterizado por formações abertas ou secas (Myers *et al.,* 2000). Atualmente, apenas 7,91% da sua cobertura de vegetação original pode ser encontrada em uma paisagem com fragmentos florestais remanescentes, isolados por extensas áreas agrícolas e centros urbanos (Myers *et al.,* 2000; SOS Mata Atlântica Inpe, 2008).

A variação latitudinal da Mata Atlântica resultou em um bioma bastante heterogêneo com um grande número de espécies, sendo conhecidas 526 espécies de vertebrados endêmicos e cerca de 8000 espécies de plantas endêmicas (Myers *et al.,* 2000). Todo o território desse bioma sofre influência dessa variação latitudinal associada a fatores históricos e climáticos, como: temperatura, precipitação e luminosidade (Myers *et al.,* 2000). Os atuais padrões de diversidade de espécies no bioma são resultados dos eventos de mudanças no clima que caracterizaram o Quaternário, quando ocorreram ciclos de baixas e altas temperaturas e níveis variados de umidade atmosférica (Ledru *et al.,* 2006).

Essas modificações no ambiente, associadas aos fatores históricos, influenciam diretamente a diversificação das espécies (Wiens, 2007). Na região subtropical, a riqueza de espécies é consequência dos eventos de expansão e retração das áreas florestais

(Sanmartin e Ronquist, 2004). Portanto, essas alterações no ambiente afetaram a diversidade e a distribuição geográfica no espaço e no tempo das espécies tropicais (Martins *et al.*, 2015; Carnaval *et al.,* 2014). Além disso, a distribuição da variabilidade genética entre as populações também foi influenciada por esses fatores ambientais e históricos (Carnaval e Moritz, 2008; Thomé *et al.,* 2010).

As populações naturais de plantas são fortemente influenciadas pelos padrões de trocas genéticas dentro e entre as populações. As variações na reprodução das espécies e na história de vida podem afetar esses padrões e, como consequência, ocorre a estruturação genética das populações naturais (Avise, 2000; Hewitt, 2000; 2004). A genética de populações descreve a estruturação das populações e assume que a atual estrutura genética reflete o equilíbrio entre deriva genética e fluxo gênico (Wright, 1978). Porém, nas plantas podem existir barreiras para o fluxo gênico intraespecífico como características inerentes à distribuição geográfica e sistema reprodutivo da espécie o que pode ocasionar em eventos de especiação ao longo dos anos (Avise, 2000; Arbogast *et al.*, 2001). Esses fatores podem influenciar a variabilidade genética das populações e refletir na história evolutiva e processos biogeográficos da espécie (Avise, 2000).

As espécies e as populações que as compõe apresentam características inerentes à sua distribuição e isso pode ser resultado de suas respectivas histórias (Brooks *et al.*, 2002). Os estudos de genética de populações associados à filogenia e taxonomia da espécie permitem investigar as relações entre os processos micro e macroevolutivos (Avise, 2000). Essa associação, conhecida como filogeografia, possibilita compreender como os eventos históricos (*e.g*. extinção, recolonização, efeito gargalo e efeito fundador) influenciaram na distribuição geográfica atual dos genes, das populações e das espécies na atual paisagem (Avise, 2000; Hewitt, 2000; 2004; Ricklefs, 2010). Neste contexto, é possível avaliar a influência dos fatores históricos na distribuição da biodiversidade.

Dentre as espécies nativas da Mata Atlântica e endêmica de regiões florestais do Neotrópico, a *Dicksonia sellowiana* Hook. (Família Dicksoniaceae), é caracterizada como uma samambaia arbórea conhecida popularmente como "xaxim" ou "samambaiaçu" (Figura 1). O seu tronco é maciço com diâmetro que pode variar de 12 a 50 cm e altura de até 10 m, como observado na figura 1A (Pio Corrêa, 1931). O caudície é basalmente decumbente com tricomas longos e densos e é cercado por uma bainha larga constituída de raízes (Figura 1A e 1B; Fernandes, 2000). As raízes da espécie são bastante fibrosas e podem estar localizadas desde a base até o ápice (Fiori *et al.,* 2009). As frondes são aglomeradas e com soros solitários (Figura 1C, 1D e 1E; Sodiro, 1893). O tronco é usado como material para jardinagens e produção de plantas ornamentais e, em função disso, a espécie foi incluída no Anexo II da CITES (MMA, 1998) e categorizada como ameaçada de extinção. *Dicksonia sellowiana* ocorre em áreas de mata úmida na América Central e na América do Sul, com distribuição da Venezuela para a Colômbia, sul da Bolívia, Peru, Equador, Brasil, Paraguai e Uruguai (Tryon 1970, 1972). No Brasil, a espécie é endêmica da Mata Atlântica e ocorre em altitudes mais baixas, aproximadamente a partir de 300m (Oliveira *et al.,* 2013; Mallmann *et al.,* 2018).

A espécie possui um ciclo de vida com alternância de gerações, sendo uma delas gametofítica (haploide), considerada como a fase efêmera e a outra esporofítica (diploide), a qual caracteriza a fase permanente (Figura 1A; Raghavan, 2005). *Dicksonia sellowiana* é classificada como uma samambaia homosporada e seus esporos são produzidos pelos esporângios através de meiose (Figura 1E; Raghavan, 2005). Os esporos de *D. sellowiana* são pequenos e leves, semelhantes à poeira, e podem ser dispersados facilmente pela ação de chuvas e vento, o que permite a migração de indivíduos entre regiões distantes (Fernandes, 2000; Fiori *et al.,* 2009). Em condições ideais do ambiente, que incluem temperatura inferior a 20°C e intensidade luminosa moderada, os esporos

germinam em solo úmido e produzem os gametófitos masculinos ou femininos (Ibars e Estrelles, 2012). Nessa fase, ocorre a fecundação cruzada a qual é dependente de água, o que caracteriza a espécie como restrita a ambientes úmidos e sensível a mudanças no ambiente (Raghavan, 2005; Ibars e Estrelles, 2012). Após a fecundação, o zigoto origina o esporófito, o qual pode atingir até seis metros de altura e passará a produzir novos esporos após a formação da estrutura dos esporângios (Ibars e Estrelles, 2012). As características morfológicas e reprodutivas de *D. sellowiana* são comuns para a maioria dos representantes do gênero, o que mostra uma similaridade entre as pteridófitas arbóreas (Ibars e Estrelles, 2012).

Os estudos genéticos são escassos com esse táxon mas sabemos que o gênero possui um ancestral comum e que a sua origem é recente (~2,0 Ma), quando comparada com espécies de angiospermas e de outras pteridófitas (Korall *et al.,* 2014; Noben *et al.,* 2017).

Em populações naturais de *D. sellowiana* da Mata Atlântica, sabe-se que existe uma estruturação genética nas populações e que esse padrão se estabeleceu, provavelmente, em razão dos eventos de expansão, regressão e fragmentação da FOM e do sistema reprodutivo da espécie (Santos, 2011). Diante da distribuição e características do nicho de *D. sellowiana* podemos considera-la como uma espécie modelo a fim de compreendermos a história evolutiva de formação da Mata Atlântica. Tomando a história de diversificação do bioma, o foco dessa tese foi de conhecer os aspectos espaciais e temporais do padrão genético de *D. sellowiana* no Brasil e associar com a história evolutiva do Neotrópico a fim de compreender a taxonomia e a distribuição da espécie na América. A tese está estruturada em três capítulos. No Capítulo I apresento a tipificação de *Dicksonia sellowiana* Hook. var. *arachneosa* ainda não designada até o momento a fim de contribuir para a taxonomia do gênero *Dicksonia* na América. Essa variedade

determinada por Sodiro (1893) foi coletada no vale do vulcão *El Corazon*, no Equador, sendo restrita da região. No Brasil, todos os registros da espécie *D. sellowiana* são tipificadas de acordo com a classificação de Hook. Dessa forma, no Capítulo II busquei estudar a genética de populações dessa espécie em formações florestais da Mata Atlântica. A partir desses dados de estrutura genética da espécie investiguei a correlação do padrão genético com as variáveis abióticas - temperatura, precipitação, altitude e latitude - das regiões de ocorrência natural de *D. sellowiana*. Por fim, no Capítulo III meu foco foi de estudar a filogeografia da espécie, comparando o padrão de diversidade de haplótipos de cpDNA no gênero e sua distribuição no Neotrópico e em regiões da Oceania.

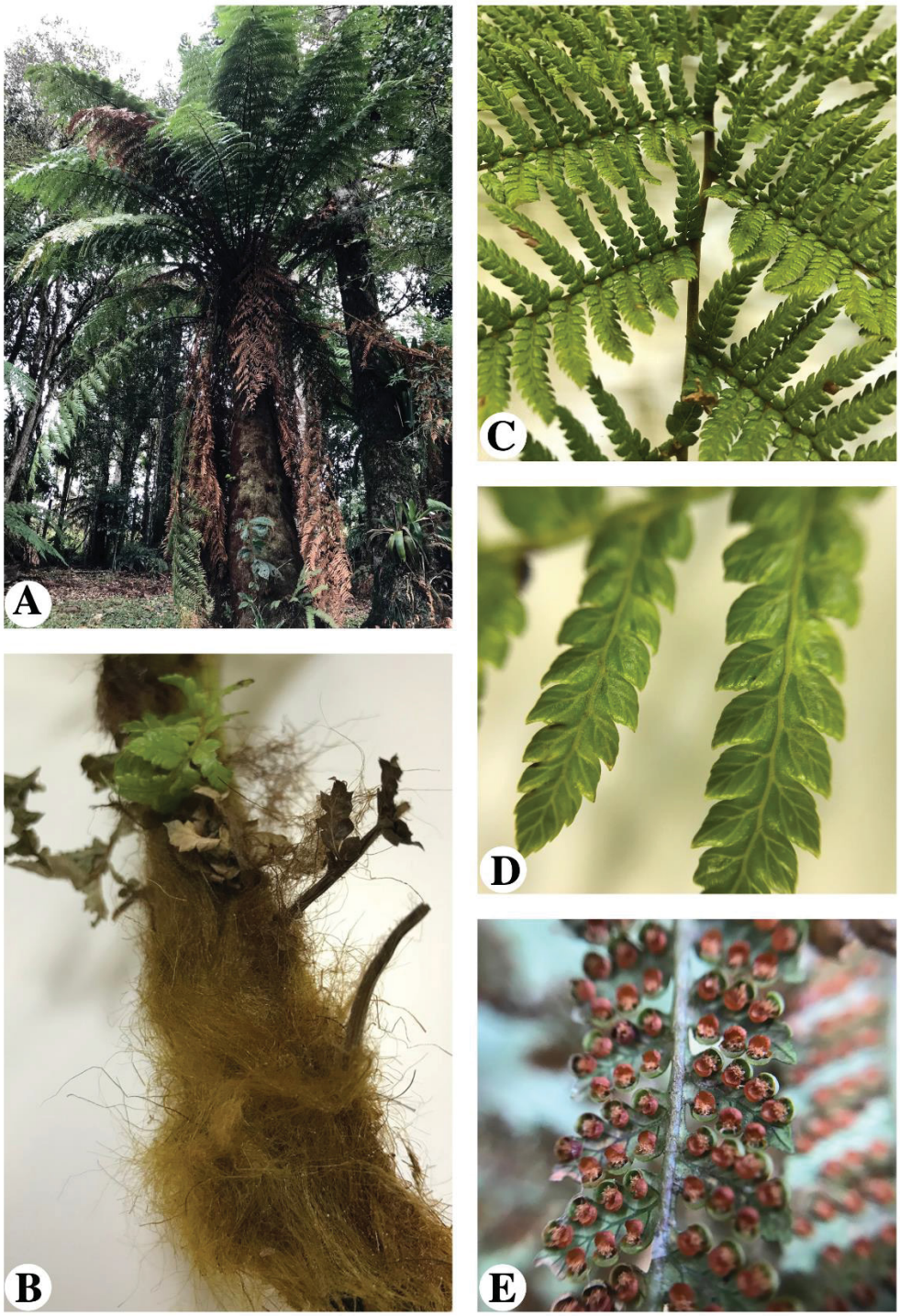


Figura 1 – *Dicksonia sellowiana* Hook. A. Porte arbóreo do indivíduo adulto. B. Tricomas do caule. C e D. Fronde e folíolos. E. Esporângio maduro. Fotos: Adriano Silvério e Bruna Saviatto Fagundes.

2. CAPÍTULO I

AVOIDING AMBIGUITY FOR THE NAMES RELATED TO THE HIGHLY ENDANGERED *Dicksonia sellowiana* Hook. (DICKSONIACEAE)

Capítulo formatado de acordo com as normas da revista Taxon ISSN 0040-0262 (Print) ISSN 1996-8175 (Online)

Avoiding ambiguity for the names related to the highly Endangered *Dicksonia sellowiana* Hook. (Dicksoniaceae).

Bruna Saviatto Fagundes [1,2], Tania Maria Moura[3,4], André Luiz Gaglioti[5] & Valéria Cunha Muschner[1,2]

[1] Graduate Program in Ecology and Conservation, Federal University of Paraná, Curitiba, Brazil.

[2] Laboratory of Plant Molecular Ecology, Department of Botany, Biological Sciences, Polytechnic Center, Federal University of Paraná, PO Box 19031, CEP: 81531 -990, Curitiba, PR, Brazil.

[3] Universidade Estadual do Centro-Oeste (Unicentro), Departamento Ciências Biológicas, Rua Simeão Varela de Sá, 03, Vila Carli. 85040-080 Guarapuava, PR – Brazil;

[4] Research Associate Missouri Botanical Garden, P.O. Box 299, St. Louis, Missouri 63166-0299, U.S.A.

[5] Instituto de Botânica de São Paulo, Departamento Herbário SP, Av. Miguel Stéfano, 3687, Água Funda, CEP: 04301-902, São Paulo, SP, Brazil

Abstract

A lectotype is selected for *Dicksonia sellowiana* Hook. var. *arachneosa* Sodiro (= *Dicksonia sellowiana* Hook.) using a specimen from PH. In the protologue, Sodiro (1892: 83) does not designate the type of species, which has not been made by anyone until now.

Keywords Cyatheales; Neotropical flora; typification;

INTRODUCTION

Dicksonia sellowiana var. arachneosa (Dicksoniaceae) was first described by Sodiro (1892: 83). The author distinguishes the *var. arachneosa* as "stipitibus, rachibus et segmentis infra dense arachneoso-tomentosis, pilis setosis, castaneis cum tela arachneosa commixtis; soris in segmentis singulis 1-4". This species is cited by Sodiro (1983: 44) in the same way as described in the protologue.

Tryon (1986: 4) in the Flora of Ecuador synonymized *Dicksonia sellowiana var. arachneosa* in *Dicksonia sellowiana* Hook. This species, popularly known such as "xaxim", presents arboreal habit of economic interest in ornamental plants, which is highly exploited and therefore included in CITES's list of endangered (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) (CITES 2009).

The current distribution of *Dicksonia sellowiana*, is characterized as disjunct (Margalef 1989) and includes the South of Mexico, in Central America, and nine countries of South America: Venezuela, Colombia, Ecuador, Peru, Chile, Bolivia, Brazil, Argentina and Uruguay (Fernandes 2000).

DISCUSSION AND LECTOTYPIFICATION

Dicksonia sellowiana Hook. Species Filicum 1: 67. 1844. – Lectotype (designated by Tryon & Stolze (1989): *Sellow s.n.,* Brazil (K [barcode] 589710 [photo!]; Isolectotypes, LE [bc] 8019 photo!, US [bc] 66377 photo!). Remaining syntype, *J. Miers 232*, Brazil, Organ Montain (K [bc] 589712 [photo!]).

> **Dicksonia spruceana Mett. ex Kuhn**, Linnaea 36: 153. 1869. Dicksonia sellowiana Hook. var. spruceana (Mett. ex Kuhn) Baker, Syn. Fil. (Hooker & Baker), ed. 2. 461. 1874. – Holotype (?) *R. Spruce 4728*, Peru, Tarapota, (B ??);

isotypes, A [bc] 20971 [photo!], BM [bc] 97860 [photo!], BM [bc] 586133 [photo!], GH [bc] 20972 [photo!], K [bc] 6839 [photo!], K [bc] 6840 [photo!], K [bc] 6841 [photo!], LD [bc] 1763634 [photo!], LD [bc] 1763698 [photo!], US [bc] 66378 [photo!].

Dicksonia sellowiana var. karsteniana (Klotzsch) Sodiro, Recens. Crypt. Vasc. Quit. 22. 1883. *Balantium karstenianum* Klotzsch, Linnaea 20: 444. 1847. – Holotype: *H. Karsten #II 9,* Colombia, B [barcode] 200138452 [photo!].

Dicksonia sellowiana Hook. var. arachneosa Sodiro, Anales Univ. Centr. Ecuador 7 (49): 83. 1892.–**Lectotype (designated here):** *Sodiro s.n.*, XII.07, Ecuador, Volcan Corazán (PH 00011493 [photo!]); remaining syntype S [barcode] S-R-1484 [photo!].

In the protologue, Sodiro (1892: 83) cited *Dicksonia sellowiana* var. *arachneosa* as occurrence "crece en la región arbórea superior del vólcan 'el Corazón' à 3300 metros". This region corresponds to the Volcan Corazon that is a high mountain eroded stratovolcano at an elevation of 4.142m (13,589ft) above the sea level, located in the western slopes of the Andes, in Pichincha, Ecuador.

According to Stafleu & Cowan (1985) the collection of Luigi Sodiro is hosted in both Q and QPLS [further material at B (mainly destroyed), and also BAF, BP, BR, E, G, K, NY, MO, OXF, PH, S, SI, US]. We have sent e-mail to the curators of both Q and QPLS, and have not located any specimen eligible to be the type. Two specimens *Sodiro s.n.* were located at PH [barcode-11493] and S [barcode-S-R-1484], and both fit the protologue. The field label of PH specimen informs "*Dicksonia sellowiana* HK v. *arachneosa* Sod. v. no, Ecuador Vólc. Corazán, XII.07". The calligraphy observed on the label may be of Sodiro according to other manuscripts attributed to the author. Therefore, we conclude

that PH-11493 is original material and we are designating it as the lectotype of *Dicksonia sellowiana* var. *arachneosa* Sodiro.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge the following institutions and their representatives for all the help offered: PH, S and SP. This research was supported by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES / proc. 88887.195545/2018-00), Fundação de Amparo à Pesquisa de São Paulo (FAPESP / proc. 2016/50385-4) and Instituto de Botanica de São Paulo.

LITERATURE CITED

CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) - Apendices I, II and III, valid from 22 May 2009. Disponível em: http://www.cites.org/esp/app/appendices.html. Acesso em 01/07/2018.

Margalef, R. 1989. On diversity and connectivity, as historical expressions of ecosystems. *Coenoses* 4: 121-126.

Fernandes, I. 2000. Taxonomia dos representantes de Dicksoniaceae no Brasil. *Pesquisas* 50: 5-26.

Sodiro, A.L. 1892. Ciencias Cryptogamae Vasculares Quitenses. Adiectis Speciebus. *Anales Univ. Centr. Ecuador* 7(49): 79–86.

Sodiro, A.L. 1893. Cryptogamae Vasculares Quitenses. Adiectis Speciebus. In Allis Provinciis. Ditionis Ecuadorensis. Hactenus Detectis. *Crypt. Vasc. Quit.* 7(49): 79–86.

Stafleu, F.A. & R. A. Cowan. 1985. Taxonomic Literature: A Selective Guide to

Botanical Publication and Collections with Dates, Commentaries and Types. 2nd Edition. Bohn, Scheltema and Holkema, Utrecht.

Tryon, R. 1986. 12 A. Dicksoniaceae. In: Harling & L. Andersson (eds.). 27: 1–6. In G. W. Harling & B. B. Sparre (eds.) Fl. Ecuador. University of Göteborg & Swedish Museum of Natural History, Göteborg & Stockholm.

3. CAPÍTULO II

HISTORICAL AND CLIMATE FACTORS ACTING OVER GENETIC DIVERSITY OF A THREATENED FERN FROM A NEOTROPICAL HOTSPOT

Capítulo formatado de acordo com as normas da revista Conservation Genetics (ISSN 1572-9737 Online).

Historical and climate factors acting over genetic diversity of a threatened fern from a Neotropical hotspot

Bruna Saviatto Fagundes[1, 2], Maria Augusta Poersch[1], Jaqueline dos Santos[1], André Luiz Gaglioti[3], Paulo Henrique Labiak[1], Valeria Cunha Muschner[1, 2]

[1] Plant Molecular Ecology Laboratory, Departamento de Botânica, Setor de Ciências Biológicas, Centro Politécnico, Universidade Federal do Paraná, Caixa Postal 19031, CEP: 81531-990, Curitiba, PR, Brazil;

[2] Graduate Program in Ecology and Conservation, Universidade Federal do Paraná, UFPR, Curitiba, Brazil;

[3] Instituto de Botânica de São Paulo, Departamento Herbário SP, Av. Miguel Stéfano, 3687 Água Funda, CEP: 04301-902, São Paulo, SP, Brazil.

Author for correspondence: brunasaviatto@gmail.com +55(41)33611755

Abstract

Information on genetic diversity of native and endangered species in biodiversity hotspots is important for the development of conservation strategies in these areas. Correlating data on genetic diversity and structure of natural populations with climatic variables allows to predict future threats to species and their respective niches, such as temperature, and precipitation. In this study, we use microsatellite markers to estimate the genetic diversity and structure of 14 populations of *Dicksonia sellowiana* from Atlantic Forest, a neotropical hotspot . The results show that populations of *D. sellowiana* have high genetic diversity and moderate structure over the studied region and the genetic diversity is best explained when considering two genetic groups. Correlation analysis between population genetic data and climate variables (precipitation, elevation and latitude) shows that *D. sellowiana* is genetically structured in the Atlantic Forest according to a climate barrier determined by moisture and influenced by latitude. In addition, there is evidence that regions near the river valleys in South Brazil correspond to historical forest refuges for the species during the Pleistocene. The overall analyses of our results suggest the vulnerability of the *D. sellowiana* to climate change and habitat loss.

Keywords: Neotropic; Atlantic Forest; Gene Flow; Genetic structure; Microsatellites; Pteridophyta; Population Genetics.

Introduction

Biodiversity studies of *hotspots* aim to increase knowledge about the richness and dynamics of native species in order to safeguard biomes (Myers et al. 2000). The key to conserving these ecosystems is understanding how the different lineages of populations of native species are ecologically related to their environment (Pimm et al. 1995; Myers et al. 2000; CBD 2016).

The Neotropic covers biomes with high diversity and endemism of species (Antonelli and Sanmartín 2011). Native species of the Atlantic Forest exhibit different patterns of biological diversity as a result of its extensive latitudinal gradient, which, in turn, is correlated with environmental variation along the area of occurrence of the biome in the east coast region of the Neotropic (Caley and Schluter 1997; Gaston 2000; Ribeiro et al. 2009). In addition, environmental characteristics associated with habitat reduction through fragmentation may restrict the distribution of native species, making them more vulnerable to environmental changes and increasing the risk for extinction (Laurance 1991; Myers et al. 2000; SOS Mata Atlântica INPE 2008). Likewise, latitudinal variation of the Atlantic Forest has resulted in a mosaic of heterogenous phytophysiognomies, leading to a considerable number of narrow endemic species along its distribution –about 526 known species of vertebrates and 8000 species of plants are endemics to the Atlantic Forest (Myers et al. 2000).

The pattern of species diversity observed in the Atlantic Forest can also be explained by historical factors associated with aspects of geography and climate (Wiens 2007). Oscillations in temperature and humidity during the Quaternary resulted in the distribution of species in refuges along the entire latitudinal gradient of the Atlantic Forest (Behling 1997; Behling 2002; Carnaval and Bates 2007; Carnaval et al. 2014). Studies of the reconstruction of flora and climate show evidence of forest contraction in regions of high humidity and low elevation during the last glacial maximum (Behling 1997; Behling

2002; Pinheiro et al. 2011). Historical factors related to the distribution of flora can be understood from studies on the patterns of genetic diversity of native species of the Atlantic Forest (Behling 1997; Behling 2002; CBD 2016).

Among the endemic species in the Atlantic Forest is *Dicksonia sellowiana* Hook. (Dicksoniaceae M.R. Schomb.), an endemic tree fern species that occurs along the mountain range of Serra do Mar, usually at elevations above 500 m. The species is popularly known as xaxim or xaxim-bugio, and is considered endangered (CITES 2009). It belongs to the Dicksoniaceae, a family that emerged at the end of the Jurassic period, about 157 million of years ago (m.y.) (Noben et al. 2017). There are few genetic studies of pteridophytes, but it is known that in the Neotropical region there is a high endemism of species in this group (Noben et al. 2018). Speciation events that occurred in the genus *Dicksonia* are recent, beginning after the breakup of Gondwana (Noben et al. 2017; Noben et al. 2018). Thus, the processes that involved the speciation and emergence of species of *Dicksonia* were related to Gondwanan biogeographic elements, the distribution of which are likely associated with tectonic events (McLoughlin 2001; Heads 2005; Noben et al. 2017). Dispersion events for the genus show that areas of center of origin of South American species derived from Central American regions with distribution along the Pacific Coast to the South of the continent and later in areas of the east coast of Brazil (Noben et al. 2017). Therefore, it is possible that *D. sellowiana* is no older than 2 millions of years (Noben et al. 2017). Its niche is limited as a function of water-dependent reproduction with greater development of populations in wetlands and near river valleys (Margalef 1989; Filippini et al. 1999; Fernandes 2000; Fiori et al. 2009), that is, regions of Atlantic Forest (Fernandes 2000; Lima et al. 2015). The species is endemic and highly threatened, requiring the availability of molecular data to understand the historical-evolutionary context of pteridophytes in the Neotropical region.

We used data on the genetic diversity and structure of *D. sellowiana*, and correlated them with the abiotic variables in order to evaluate the genetic pattern of its populations along the Atlantic Forest. In this paper, we aim to understand how climate is affecting the genetic diversity of fern species, allowing the mitigation of the effect of climate change on biodiversity.

Materials and methods

Plant Sample and DNA Extraction

Our sampling included a total of 267 individuals representing 14 populations of *Dicksonia sellowiana,* from the Southeast and South regions of Brazil (Table 1). The populations were collected in areas of native forest and cover the entire distribution of the species in Brazil. Specimens were conserved in silica gel and the DNA extracted based on the protocol of Roy et al. (1992) and subsequently stored at -20°C. Vouchers are deposited at the Herbarium UPCB.

PCR-Microsatellites

Molecular analyses were conducted using eight microsatellite loci (*Simple Sequence Repeats* SSR) developed by Nazareno et al. (2013) for *D. sellowiana*. Polymerase chain reaction (PCR) (*Polymerase Chain Reaction*) was conducted with a final volume of 15µL containing: 1X PCR *Buffer*, 1 mM de $MgCl_2$, 0.25 mM of each dNTP, 0.5 µM of each *primer,* 1 U de *Taq* DNA Polymerase and 15 ng of genomic DNA. PCR conditions included an initial denaturation at 94ºC for 3 minutes, followed by 35 cycles of 94ºC for 30s, annealing temperature of the *primer* for 45s and 72ºC for 1min, and finally 72°C for 15 min for final extension of the fragments. The annealing temperature for each SSR *locus* is provided in Table 2. The results of the reactions were evaluated in 2% agarose gel stained with ethidium bromide (0.5 µg mL^{-1}). Alleles of the SSR *loci* were

subsequently analyzed by automatic DNA genotyping (*3500xL Genetic Analyzer*) using LIZ-600 (*GeneScan – Applied Biosystems*) as the standard for fragment size. Individuals from each population were genotyped according to the alleles present at each locus using Genemaker *software* (SoftGenetics LLC).

Analysis of SSR data

Percentage of polymorphic *loci*, observed heterozygosity (Ho), expected heterozygosity (He), Wright's F statistic and gene flow were calculated using GenAIEx 6.5016.501 software (Peakall and Smouse 2012). Intra- and inter-population molecular variance were estimated by AMOVA with a thousand permutations using GenAIEx software. The linkage disequilibrium (LD) was estimated according to the D statistic of Kimura and Ohta (1969) using PopGene 1.32 (Yeh et al. 1999).

The program STRUCTURE version 2.3.4 (Pritchard et al. 2000; Falush et al. 2003; Falush et al. 2007; Hubisz et al. 2009; Pritchard et al. 2010) was used to determine the distribution of *clusters* among populations through grouping based on the Bayesian model. In order to determine the ideal number of genetic groups (number of *clusters* = K) simulations were performed assuming that it was possible to obtain any number of *clusters* between 1 and 15. The *admixture* ancestry model was used for this analysis, with the allele frequencies correlated for 250000 *burn-in* and subsequently 1000000 Markov Chain Monte Carlo (MCMC) repetitions. The most probable K among those proposed by the analysis was defined using the criterion of Evanno et al. (2005) by means of the program Structure Harvester version 6.93 (Earl and Vonhold 2012).

Pearson correlation ($\alpha = 0.05$) calculated with R *software* (R Development Core Team 2010) was used to verify the correlation between abiotic factors and genetic diversity of *D. sellowiana.* Mean temperature (°C) and precipitation (mm) of the last 25 years, elevation (m) and latitude (°) of each location of each population were used as

predictor variables (Table 1). The values of temperature and precipitation were obtained from the most recent climate classification of Köppen (1936) published by Alvares et al. (2014). The response variables (genetic diversity) used were the indices Ho and He and the inbreeding coefficient (F_{IS}). In addition, Pearson correlation analysis ($\alpha = 0.05$) was performed between the frequency of genetic groups obtained in STRUCTURE for each population and latitude to determine if there is an association between latitudinal variation and genetic structuring of the species in Brazil.

Results

The eight SSR *loci* used in this study had 100% polymorphism and amplified 32 alleles for an average of 3.8 alleles per *locus*. The greatest number of amplified alleles (seven) was for *locus* DIC03. Three exclusive alleles were identified for *loci* DIC06, DIC10 and DIC12 for populations in the South Region of Brazil (Paraná [PR], Santa Catarina [SC] and Rio Grande do Sul [RS]). Mean values for the genetic diversity indices for the species in Brazil were: He = 0.50, Ho = 0.45 and F_{IS} = 0.08 (Table 3). Populations of the states of Espírito Santo (ES), PR, SC and RS had the highest heterozygosity indices. In these regions, the observed heterozygosity was greater than 0.50, with emphasis on the populations of Quatro Barras (PR2) and Irani (SC1). The genetic differentiation coefficient (F_{ST} = 0.15) indicates moderate genetic structure among populations of *D. sellowiana* in Brazil, with average gene flow among all populations being 1.89 individuals per generation. The AMOVA indicated greater genetic variation within populations (63%) than among them (12%) or among individuals (25%; Table 4).

The evaluated *loci* varied for the D statistic proposed by Ohta (1982) as: $D_{IS}^2 < D_{ST}^2$ and $D'_{IS}^2 > D'_{ST}^2$. In other words, according to mean values, *loci* exhibited non-significant linkage disequilibrium ($p > 0.001$) in the studied populations of the species.

The number of *clusters* defined by STRUCTURE was K = 2 (Figure 1). Genetic group A was predominant in the populations of São Paulo (SP), PR, SC and RS, while genetic group B was most represented in the populations of ES, Minas Gerais (MG) and Rio de Janeiro (RJ). *Cluster* A was observed in populations located in regions with a super-humid temperate climate, according to the Brazilian climate classification system (IBGE 2002). *Cluster* B was predominant in populations located in regions with a semi-humid tropical climate (IBGE 2002).

According to the Pearson correlation analysis, latitude was significantly positively correlated with He ($r = 0.80$, $p = 0.0005$). In addition, regional precipitation was found to be directly correlated with population He ($r = 0.61$; $p = 0.0204$). Elevation was significantly negatively correlated with Ho ($r = -0.67$, $p = 0.007$) and He ($r = -0.62$, $p = 0.01$). The Ho of populations of *D. sellowiana* was not significantly ($p > 0.05$) influenced by precipitation or latitude, while F_{IS} was not influenced by any of the abiotic variables evaluated ($p > 0.05$). The response variables analyzed — Ho, He and F_{IS} — were not significantly ($p > 0.05$) correlated with temperature. There was a positive correlation between latitudinal gradient and the frequency of genetic group A in the Brazilian populations studied ($r = 0.75$, $p = 0.008$).

Discussion

Population Genetic Diversity and Structure

The distribution of genetic diversity and the genetic structure of native Atlantic Forest species may be associated with the climatic gradient (Salgueiro et al. 2004; Pinheiro et al. 2011). The values found for the populations of *D. sellowiana* in South Brazil (He > 0.55 and Ho > 0.50) indicated greater diversity than in populations of the Southeast Region. Higher genetic diversity (He > 0.55 and Ho > 0.50). was also found for

populations in the South Region of the species *Araucaria angustifolia* (Bertol) Kuntze (Bittencourt and Sebbenn 2009; Souza et al. 2009), *Vriesea* spp. (Palma-Silva et al. 2009), *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek (Mossi et al. 2009), *Eugenia uniflora* L. (Ferreira-Ramos et al. 2008; Fagundes et al. 2016; Turchetto-Zolet et al. 2016), *Schinus terebinthifolius* Raddi (Alvares-Carvalho et al. 2016), *Ocotea catharinensis* Mez (Martins et al. 2015) and *Epidendrum fulgens* Brongn. (Pinheiro et al. 2011). These species possess a preference for humid climates and temperate to subtropical temperatures, which are characteristics found in Atlantic Forest (Roderjan et al. 2002; Palma-Silva et al. 2009; Martins et al. 2015; Alvares-Carvalho et al. 2016).

Individuals of populations of the states of SP, MG, RJ and ES were sampled from areas of Dense Montane Ombrophilous Forest (Roderjan et al. 2002) where climatic conditions are those of a subtropical climate with lower humidity and precipitation than of Atlantic Forest. In addition, there is co-occurrence of *A. angustifolia* and *D. sellowiana* in Atlantic Forest (Biondi et al. 2009; Castello et al. 2017; Mallmann et al. 2018). This association between these two species can be explained by the conditions of the araucaria subcanopy, which provide greater shading and humidity and thus a more favorable microhabitat for the development of *D. sellowiana* (Mantovani et al. 2004). Populations of *D. sellowiana* have wide spatial distributions and high densities in the states of the South Region, especially in the valleys of Santa Catarina where *A. angustifolia* predominates and humidity is above 90% throughout the year (Lehnert and Kessler 2018; Mallmann et al. 2018).

The indices of genetic diversity for the populations of *D. sellowiana* in Espírito Santo were greater than 0.50, as was found in the South Region. The regions where these populations are established correspond to climatic corridors with milder temperatures, humidity varying from moderate to elevated, and elevations below 1000m, according to

records for climatic domains of IBGE (2012) identified in Figure 1. Together, these factors may have favored the maintenance of the species' genetic pool and guaranteed its reproductive success (Table 3).

Despite inherent barriers to the climatic domains of the Atlantic Forest, there is gene flow (Nm = 1.89) among populations, which is in line with a relevant feature of the reproductive biology of pteridophytes — long-distance dispersal (Kato 1993). Spores of *D. sellowiana* are small and slight, similar to dust, and can be easily dispersed by rain and wind, which facilitate the migration of individuals (Tryon and Tryon 1982; Tryon and Lugardon 1991; Fernandes 2000; Fiori et al. 2009). The species is dependent on climatic characteristics with high humidity to achieve reproductive success since germination of its spores and fertilization of gametes in the gametophytic phase occurs in the presence of water (Fernandes 2000; Fiori et al. 2009).

The observed patterns of genetic structuring are in agreement with the geography and environmental variables of the Atlantic Forest. The two genetic groups present in the populations of *D. sellowiana* are correlated with elevation and latitudinal gradients, and with the precipitation variation of the biome. These two lineages are distributed according to climatic domains in Brazil, where *cluster* A is most frequent in regions classified as wet or super-humid (Figure 1), while *cluster* B is more frequent in regions classified as semi-humid (Figure 1). There is a climatic barrier acting on the populations of *D. sellowiana* between the southeast and south of the east coast (Behling 1997; Behling 2002), which separates the populations in the biome according to the latitudinal gradient and influences the precipitation of each area (Figure 1; Pellegrino et al. 2005; Thomé et al. 2014).

During the last glacial maximum, South America underwent climatic changes but was not subjected to extensive areas of glaciation (Hewitt 1996). Thus, there are

hypotheses that indicate the presence of forest refuges in regions where the temperature remained more stable in the face of the oscillations of the Pleistocene and Holocene (Behling 1997; Behling 2002; Carnaval and Moritz 2008; Ribeiro et al. 2011; Pinheiro et al. 2011; Turchetto-Zolet et al. 2013; Thode et al. 2014; Carnaval et al. 2014). The regions of river valleys possess high humidity, which provides ideal conditions to stabilize temperature during periods of climate change (Behling 2002; Thomé et al. 2014; Leite et al. 2016; Rosa et al. 2017). This suggests that these valleys served as refuges for species with a substantial need for moisture for survival, such as *D. sellowiana*, which would explain the genetic structuring observed here (Antonelli and SanMartin 2011; Pinheiro et al. 2011; Stefenon et al. 2019)

Perceptions on the Evolutionary History of the Atlantic Forest

The higher genetic diversity indices for ES and the South Region of Brazil, and the observed genetic structuring (Table 3), may be indicative of an evolutionary history associated with the presence of forest refuges in the valleys near hydrographic basins, as proposed by Behling (1997; 2002), Frankham (2003), Palma-Silva et al. (2009), Pinheiro et al. (2011) and Thode et al. (2014). In addition to historical fragmentation, populations of the Atlantic Forest are under selective pressure due to bottlenecks or a recent founding effect, leading to genetic erosion as a consequence of habitat loss and fragmentation due to antropic activities (Teale et al. 2014; Ornelas et al. 2019).

The scenario presented by these data indicates the existence of geographically-structured genetic lineages, which are associated with the gradient of temperature and humidity of the Atlantic Forest (Ribeiro et al. 2011; Pinheiro et al. 2011). A similar landscape was proposed by Behling (1997; 2002) for plant species of Atlantic Forest. This author hypothesized that in the Lower and Middle Holocene, during glacial periods, Atlantic Forest remained under refuge in river valleys due to the high humidity in these

environments. Behling's proposal (1997; 2002) is consistent with the genetic pattern observed for *D. sellowiana*, since populations living in different environments of Atlantic Forest and Dense Montane Ombrophilous Forest were affected differently. This discrepancy of the patterns observed at the landscape scale is generally the result of barriers that were formed in geological periods in the beginning of the Pleistocene for species of the Atlantic Forest flora (Behling 1997; Behling 2002; Carnaval e Moritz 2008; Ribeiro et al. 2011; Pinheiro et al. 2011; Turchetto-Zolet et al. 2013; Thode et al. 2014; Carnaval et al. 2014).

Contributions to Genetics and Conservation

Although knowledge about the ecological dynamics of *D. sellowiana* are scarce, the characteristics of its reproductive system and its distribution in Brazil allow us to understand the genetic pattern observed for the populations of the species. The constant climatic changes that occurred in the Quarternary acted as a force in the genetic diversification of species in the Atlantic Forest, as was observed in other taxa with similar ecological niches (Palma-Silva et al. 2009; Pinheiro et al. 2011; Thode et al. 2014). Microsatellite markers clarified the distribution of this genetic diversity of *D. sellowiana* in relation to the history of the formation of the Atlantic Forest. In addition, the data presented here support the hypothesis of Behling, indicating that hydrographic basins served as refuges for forest species, such as *D. sellowiana.* It is clear that current patterns of genetic distribution of the species in Brazil are correlated with the temperature and humidity of the environment, which influence its niche and its reproductive biology.

Climatic change resulting from global warming tends to decrease rainfall and relative humidity and increase temperature (Raghunathan et al. 2019). These changes to the climate, along with habitat degradation and reduction by antropic activity, tend to restrict the distribution of species that are sensitive to climatic factors, and thus

characterize a threat to biological diversity (Behling and Oliveira 2018; Raghunathan et al. 2019). Therefore, *D. sellowiana* can be considered a species with sensitivity to changes in climate with its distribution being restricted to remnants of Atlantic Forest. The impact of global warming on this species can result in the isolation of populations and potentially increase their risk of extinction by making them unable to reach areas with the appropriate climate for their niche (Lehnert and Kessler 2018; Mallmann et al. 2018; Raghunathan et al. 2019).

The results reported here help identify the vulnerability of *D. sellowiana* to climate change and habitat reduction from antropic overexploitation. This paper also contributes to understanding the current *status* of the genetic diversity and structure of the species in the Atlantic Forest in order to reduce the risk of its extinction.

Acknowledgements

We thank to Isabela Galarda Varassin, Mauricio Moura, Paulo Roberto Da Silva and Walter Antonio Pereira Boeger for their help and constructive comments during the preparation of this work. B.S.F. thanks Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES for the scholarship granted for the preparation of the doctoral thesis at the Programa de Pós Graduação em Ecologia e Conservação – Universidade Federal do Paraná (no. 40001016048P6) and A.L.G. thanks Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq for the scholarship granted and Instituto de Botânica, São Paulo.

Author contributions

B.S.F. designed the research, collected field data, conducted laboratory work, analysed data and wrote the paper; M.A.P. conducted laboratory work, analysed data and wrote the

paper; J.S. collected field data and wrote the paper; A.L.G. analysed data and wrote the paper; P.H.L. analyzed data and wrote the paper; V.C.M. designed the research and wrote the paper.

References

Alvares CA, Stape JL, P. Sentelha C, Gonçalves JLM (2014) Sparovek G. Köppen's climate classification map for Brazil. Meteorol Z 22: 711–728.

Álvares-Carvalho SV, Duarte JF, Santos TC, Santos RM, Carvalho D (2016) Structure and genetic diversity of natural Brazilian pepper populations (*Schinus terebinthifolius* Raddi). Genet Mol Res 15: 15.

https://doi.org/10.4238/gmr.15028123

Antonelli A, Sanmartín I (2011) Why are there so many plant species in the Neotropics? Taxon 60 403–414.

https://doi.org/10.1002/tax.602010

Behling H (1997) Late Quaternary vegetation, climate and fire history in the Araucaria forest and campos region from Serra Campos Gerais Parana State (South Brazil). Rev Palaeobot Pal 97: 109–121.

https://doi.org/10.1016/S0034-6667(97)00044-4

Behling H (2002) South and southeast Brazilian grassland during late Quaternary times: a synthesis. Palaeogeogr Palaeoecol 177: 19–27.

https://doi.org/10.1016/S0031-0182(01)00349-2

Behling H, Oliveira M (2018) Evidence of a late glacial warming event and early Holocene cooling in the southern Brazilian coastal highlands. Quat Res 89: 90–102.

https://doi.org/10.1017/qua.2017.87

Biondi D, Leal L, Martini A, Natal CM (2009) Caracterização dendrométrica de *Dicksonia sellowiana* Hook. em povoamento de *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. Cerne 15: 4.

Bittencourt JVM, Sebbenn AM (2009) Genetic effects of forest fragmentation in high-density Araucaria angustifolia populations in southern Brazil. Tree Genet Genomes 5: 573–582.

https://doi.org/10.1007/s11295-009-0210-4

Caley MJ, Schluter D (1997) The relationship between local and regional diversity. Ecology 78: 70-80.

https://doi.org/10.2307/2265979

Carnaval AC, Waltari E, Rodrigues MT, Rosauer D, VanDerWal J, Damasceno R, Prates I, Strangas M, Spanos Z, Rivera D, Pie MR, Firkowski CR, Bornschein MR, Ribeiro LF, Moritz C (2014) Prediction of phylogeographic endemism in an environmentally complex biome. Proc Biol Sci 281: 20141461.

https://doi.org/10.1098/rspb.2014.1461

Carnaval AC, Moritz C (2008) Historical climate modeling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. J Biogeogr 35: 1187–1201.

https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2007.01870.x

Carnaval AC, Bates JM (2007) Amphibian DNA shows marked genetic structure and tracks Pleistocene climate change in northeastern Brazil. Evolution 61: 2942–2957.

https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2007.00241.x

Castello ACD, Coelho S, Cardoso-Leite E (2017) Lianas, tree ferns and understory species: indicators of conservation status in the Brazilian Atlantic Forest remnants, southeastern Brazil. Braz J Biol 77: 213–226.

http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.07715

CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) - Apendices I, II and III, valid from 22 May 2009. http://www.cites.org/esp/app/appendices.html. Accessed 15 July 2019.

CBD (Convention on Biological Diversity) (2016) The strategic plan for biodiversity 2011–2020 and the Aichi biodiversity targets. Document UNEP/CBD/COP/DEC/X/2. Secretariat of the Convention on Biological Diversity. Accessed 15 July 2019.

Earl DA, Vonhold BM (2012) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conserv Genet Resour 4: 359–361.

https://doi.org/10.1007/s12686-011-9548-7

Evanno G, Regnaut S, Goudet J (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Mol Ecol 14: 2611–2620.

https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02553.x

Fagundes BS, Silva LF, Giacomin RM, Secco D, Diaz-Cruz JA, Da-Silva PR (2016) Transferability of microsatellite markers among Myrtaceae species and their utility to obtain population genetics data to help the conservation of the Brazilian Atlantic. Trop Conserv Sci 9: 408-422.

https://doi.org/10.1177/194008291600900122

Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2003) Inference of population structure using

multilocus genotype data: Linked loci and correlated allele frequencies. Genetics 164: 1567–1587.

Fernandes I (2000) Taxonomia dos representantes de Dicksoniaceae no Brasil. Pesquisas (Botânica) 50: 5–26.

Ferreira-Ramos R, Laborda PR, Santos MD, Mayor MS, Mestriner MA, de Souza AP, Alzate-Marin AL (2008) Genetic analysis of forest species *Eugenia uniflora* L. through of newly developed SSR markers. Conserv Genet 9: 1281–1285.

https://doi.org/10.1007/s10592-007-9458-0

Filippini ECP, Duz SR, Randi AM (1999) Light and storage on the germination of spores of *Dicksonia sellowiana* (Presl.) Hook., Dicksoniaceae. Braz J Bot 22: 21–26.

http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84041999000100004

Fiori CCL, Santos M, Randi AM (2009). Aspects of gametophyte development of *Dicksonia sellowiana* Hook (Dicksoniaceae): and endangered tree fern indigenous to South and Central America. Am Fern J 99: 207–216.

https://doi.org/10.1640/0002-8444-99.3.207

Frankham, R (2003) Genetics and conservation biology. C R Biol 326: S22–S29.

https://doi.org/10.1016/S1631-0691(03)00023-4

Gaston KJ (2000) Global patterns in biodiversity. Nature 405: 220–227.

https://doi.org/10.1038/35012228

Heads M (2005) Dating nodes on molecular phylogenies: a critique of molecular biogeography. Cladistics 21: 62–78.

https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2005.00052.x

Hewitt GM (1996) Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. Biol J Linn Soc 58: 247–276.

https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1996.tb01434.x

Hubisz MJ, Falush D, Stephens M, Pritchard JK (2009) Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. Mol Ecol Resour 9: 1322–1332.

htpps://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) (2002) Mapa de clima do Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 1 mapa. Escala 1:5 000 000. http://mapas.ibge.gov.br/tematicos.html. Accessed 10 April 2019.

Kato M (1993) Biogeography of ferns: dispersal and vicariance. J Biogeogr 20: 265–274.

htpps://doi.org/10.2307/2845634

Kimura M, Ohta T (1969) The Average Number of Generations until Fixation of a Mutant Gene in a Finite Population. Genetics 61:763–771.

Köppen W (1936) *Das geographische System der Klimate*. In:Köppen W. and R. Geiger [eds], Handbuch der Klimatologie, vol.1, 1−44. Gebrüder Borntraeger, Berlin, Germany.

Laurance WF (1991) Ecological Correlates of Extinction Proneness in Australian Tropical Rain Forest Mammals. Conserv Biol 5: 78−89.

https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.1991.tb00390.x

Lehnert M, Kessler M (2018). Prodromus of a fern flora for Bolivia. XXI. Dicksoniaceae. Phytotaxa 344: 69–74.

http://dx.doi.org/10.11646/phytotaxa.344.1.9

Leite YL, Costa LP, Loss AC, Rocha RG, Batalha-Filho H, Bastos AC, Quaresma VS,

Fagundes V, Paresque R, Passamani M, Pardini R (2016) Neotropical forest expansion during the last glacial period challenges refuge hypothesis. Proc Natl Acad Sci USA 113: 1008–1013.

https://doi.org/10.1073/pnas.1513062113

Lima RAF, Mori DP, Pitta G, Melito MO, Bello C, Magnago LF, Zwiener VP, Saraiva DD, Marques MCM, oliveira AAO, Prado PI (2015) How much do we know about the endangered Atlantic Forest? Reviewing nearly 70 years of information on tree community surveys. Biodivers Conserv 24: 2135–2148.

https://doi.org/10.1007/s10531-015-0953-1

Mallmann IT, Silva VL, Port RK, Oliveira FB, Schmitt JL (2018) Spatial distribution analysis of *Dicksonia sellowiana* Hook. In Araucaria forest fragments with different sizes. Braz J Biol 79: 337−344.

http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.186083

Mantovani A, Morellato LPC, Reis MS (2004) Fenologia reprodutiva e produção de sementes em *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze. Braz J Bot 27: 787−796.

http://dx.doi.org/10.1590/S0100-84042004000400017

Margalef R (1989) On diversity and connectivity, as historical expressions of ecosystems. Coenoses 4: 121−126.

Martins EM, Lamont RW, Martinelli G, Lira-Medeiros CF, Quinet A, Shapcott A (2015) Genetic diversity and population genetic structure in three threatened *Ocotea species* (Lauraceae) from Brazil's Atlantic Forest and implications for their conservation. Conserv Genet 16: 1–14.

https://doi.org/10.1007/s10592-014-0635-7

McLoughlin S (2001) The breakup history of Gondwana and its impact on pre-Cenozoic floristic provincialism. Aust J Bot 49: 271−300.

https://doi.org/10.1071/BT00023

Mossi AJ, Cansian RL, Leontiev-Orlov O, Cechet JL, Carvalho AZ, Toniazzo G, Echeverrigaray S (2009) Genetic diversity and conservation of native populations of *Maytenus ilicifolia* Mart. Ex Reiss. Braz J Biol 69: 447–453.

http://dx.doi.org/10.1590/S1519-69842009000200030

Myers N, Mittermeir RA, Mittermeir CG, Fonseca GA, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature 403: 853−858.

https://doi.org/10.1038/35002501

Nazareno AG, Schlindwein AD, Angelo P, Muschner VC, Santos J, Reis MS (2013) Microsatellite markers designed for tree-fern species *Dicksonia sellowiana*. Biol Plantarum 57: 563−566.

https://doi.org/10.1007/s10535-013-0311-7

Noben S, Kessler M, Weingand A, Tejedor A, Duque WDR, Gallego LFG, Lehnert M (2018) A taxonomic and biogeographic reappraisal of the genus *Dicksonia* (Dicksoniaceae) in the Neotropics. Syst Bot 43: 839−857.

https://doi.org/10.1600/036364418X697634

Noben S, Kessler M, Quandt D, Krug M, Weigand A, Lehnert M (2017) Biogeography of the Gondwanan tree fern family Dicksoniaceae - A tale of vicariance dispersal and extinction. J Biogeogr 41: 402–413.

https://doi.org/10.1111/jbi.13056

Ohta T (1982) Linkage disequilibrium with the island model. Genetics 101:139–155.

Ornelas JF, Ortiz-Rodriguez AE, Ruiz-Sanchez E, Sosa V, Pérez-Farrera MA (2019) Ups and downs: genetic differentiation among populations of the *Podocarpus* (Podocarpaceae) species in Mesoamerica. Mol Phylogenet Evol 138: 17–30.

https://doi.org/10.1016/j.ympev.2019.05.025

Palma-Silva C, Lexer C, Paggi GM, Barbará T, Bered F, Bodanese-Zanettini MH (2009) Range-wide patterns of nuclear and chloroplast DNA diversity in *Vriesea gigantea* (Bromeliaceae), a Neotropical forest species. Heredity 103: 503–512.

https://doi.org/10.1038/hdy.2009.116

Peakall R, Smouse PE (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research - an update. Bioinformatics 28: 2537–2539.

https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts460

Pellegrino KCM, Rodrigues MT, Waite AN, Morando M, Yonenaga-Yassuda Y, Sites Jr JW (2005) Phylogeography and species limits in the *Gymnodactylus darwinii* complex (Gekkonidae, Squamata): Genetic structure coincides with river systems in the Brazilian Atlantic Forest. Biol J Linnean Soc 85: 13–26.

https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2005.00472.x

Pimm SL, Russell GJ, Gittleman JL, Brooks TM (1995) The future of biodiversity. Science 269: 347−350.

https://doi.org/ 10.1126/science.269.5222.347

Pinheiro F, De Barros F, Palma-Silva C, F. M. Fay, C. Lexer, and S. Cozzolino. 2011. Phylogeography and genetic differentiation along the distributional range of the orchid *Epidendrum fulgens*: a Neotropical coastal species not restricted to glacial refugia. J Biogeogr 38: 1923−1935.

https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02539.x

Pritchard JK, Wen X, Falush D (2010) *Documentation for structure software, version 2.3.* Chicago: University of Chicago.

Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics 155: 945−959.

R Core Team (2017) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna. Available online at https://www.R-project.org/

Raghunathan N, François L, Dury M, Hambuckers A (2019) Contrasting climate risks predicted by dynamic vegetation and ecological niche-based models applied to tree species in the Brazilian Atlantic Forest. Reg Environ Change 19: 219−32.

https://doi.org/10.1007/s10113-018-1405-8

Ribeiro MC, Metzger JP, Martensen AC, Ponzoni FJ, Hirota MM (2009) The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. Biol Conserv 142: 1141−153.

https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.021

Ribeiro RA, Lemos-Filho JP, Ramos ACS, Lovato MB (2011). Phylogeography of the endangered rosewood *Dalbergia nigra* (Fabaceae): insights into the evolutionary history and conservation of the Brazilian Atlantic Forest. Heredity 106: 46–57.

https:doi.org/ 10.1038/hdy.2010.64

Roderjan CV, Galvão F, Kuniyoshi YS, Hatschback GG (2002) As unidades fitogeográficas do estado do Paraná. Revista Ciência e Ambiente 24: 75−2.

Rosa J, Weber GG, Cardoso R, Gorski F, Da-Silva PR (2017) Variability and population

genetic structure in *Achyrocline flaccida* (Weinm.) DC., a species with high value in folk medicine in South America. Plos One 12: e0183533.

https://doi.org/ 10.1371/journal.pone.0183533

Roy A, Frascaria N, Mackay J, Bonsquet J (1992) Segregating random amplified polymorphic DNAs (RAPDs) in *Betula alleghaniensis*. Theor Appl Genet 85: 173-180.

https://doi.org/10.1007/BF00222856

Salgueiro F, Felix D, Caldas JF, Margis-Pinheiro M, Margis R (2004) Even population differentiation for maternal and biparental gene markers in *Eugenia uniflora*, a widely distributed species from the Brazilian coastal Atlantic Forest. Divers Distrib 10: 201–210.

https://doi.org/10.1111/j.1366-9516.2004.00078.x

SOS MATA ATLÂNTICA/INPE (2008) Atlas dos remanescentes florestais da Mata 285 Atlântica, período 2005–2008. Fundação SOS Mata Atlântica & INPE. São Paulo.

Souza MIF, Salgueiro F, Carnavale-Bottino M, Félix DB, Alvez-Ferreira M, Bittencourt JVM, Margis R (2009) Patterns of genetic diversity in southern and southeastern *Araucaria angustifolia* (Bert.) O. Kuntze relict populations. Genet Mol Biol 32: 546−56.

http://dx.doi.org/10.1590/S1415-47572009005000052

Stefenon VM, Klabunde G, Lemos RPM, Rogalski M, Nodari RO (2019) Phylogeography of plastid DNA sequences suggests post-glacial southward demographic expansion and the existence of several glacial refugia for *Araucaria angustifolia.* Sci Rep 9: 2752.

https://doi.org/10.1038/s41598-019-39308-w

Teale NG, Mahah H, Bleakney S, Berger A, Shibley N, Frauenfeld OW, Quiring SM, Rapp DA, Roark EB, Washington-Alle R (2014) Impacts of vegetation and precipitation

on throughfall heterogeneity in a tropical pre-montane transitional cloud forest. Biotropica 46: 667–676.

Thode VA, Silva-Arias GA, Turchetto C, Segatto A, Mader G, Bonatto SL, Freitas LB (2014) Genetic diversity and ecological niche modelling of the restricted *Recordia reitzii* (Verbenaceae) from southern Brazilian Atlantic forest. Bot J Linnean Soc 176: 332–348.

https://doi.org/10.1111/boj.12202

Thomé MTC, Zamudio KR, Haddad CFB, Alexandrino J (2014) Barriers, rather than refugia, underlie the origin of diversity in toads endemic to the Brazilian Atlantic Forest. Mol Ecol 23: 6152–6164.

https://doi.org/10.1111/mec.12986

Tryon AF, Lugardon B (1991) Spores of the Pteridophyta: surface, wall structure, and diversity based on electron microscope studies. New York: Springer-Verlag. 648p.

https://doi.org/ 10.1007/978-1-4613-8991-0

Tryon RM, Tryon AF (1982) Ferns and allied plants with special reference to tropical America. New York: Springer Verlag. 858p.

https://doi.org/ 10.1007/978-1-4613-8162-4

Turchetto-Zolet AC, Salgueiro F, Turchetto C, Cruz F, Veto NM, Barros MJF, Segatto ALA, Freitas LB, Margis R (2016) Phylogeography and ecological niche modelling in *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) suggest distinct vegetational responses to climate change between the southern and the northern Atlantic Forest. Bot J Linnean Soc 182: 670-688.

https://doi.org/10.1111/boj.12473

Turchetto-Zolet AC, Pinheiro F, Salgueiro F, Palma-Silva C (2013) Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. Mol Ecol 5: 1193−213.

https://doi.org/ 10.1111/mec.12164

Wien JJ (2007) Global patterns of diversification and species richness in amphibians. Am Nat 170: 86−106.

https://doi.org/ 10.2307/4541092

Yeh FC, Yang RC, Boyle T (1999) POPGENE, version 1.32 for Windows: based freeware for population genetics analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada. Available at http://www.ualberta.ca/~fyeh/

Table 1 – Location information (city, latitude, longitude and altitude) and number of individuals sampled (N) of *Dicksonia sellowiana* populations collected in Brazil.

Population	City	Latitude (S)	Longitude (W)	Altitude (m)	N
ES1	Castelo	20°36'19.1"	41°12'10.1"	370	16
ES2	Pedra Menina	20°33'11.7"	41°49'33.2"	942	20
MG1	Alto Caparaó	20°27'28.2"	41°57'02.5"	1620	20
MG2	Alto Caparaó	20°27'26.6"	41°57'02.8"	1540	20
RJ1	Teresópolis	22°25'01.3"	43°03'27.1"	1562	20
RJ2	Resende	22°28'09.8"	44°37'29.4"	1010	20
SP1	São José do Barreiro	22°38'44.9"	44°35'05.1"	1220	19
SP2	São José do Barreiro	22°38'46.4"	44°35'04.7"	1188	20
PR1	Balsa Nova	25°34'39.1"	49°38'10.9"	863	12
PR2	Quatro Barras	25°22'49.8"	49°04'36.7"	891	20
SC1	Irani	27°01'31.5"	51°53'57.7"	650	20
SC2	Vargem Bonita	27°00'21.3"	51°44'58.2"	740	20
RS1	São Francisco de Paula	29°25'53.7"	50°32'15.7"	854	20
RS2	São Francisco de Paula	29°25'54.4"	50°32'16.3"	855	20
Total					267

ES: Espírito Santo, MG: Minas Gerais, RJ: Rio de Janeiro, SP: São Paulo, PR: Paraná, SC: Santa Catarina, RS: Rio Grande do Sul

Table 2 - Genetic parameters of each microsatellite locus for the 267 individuals of *Dicksonia sellowiana*.

Locus	A_T	Size Range (pb)	A	Ho	He	F_{IS}	F_{ST}	F_{IT}
DIC01	50	262 - 286	5	0,48	0,24	0,13	0,28	0,17
DIC02	52	207 - 214	4	0,61	0,46	0,12	0,16	0,27
DIC03	55	240 - 270	7	0,65	0,23	0,48	0,11	0,54
DIC06	56	280 - 298	3	0,50	0,56	-0,03	0,07	0,04
DIC08	50	215 - 223	3	0,49	0,52	-0,27	0,13	-0,09
DIC10	58	272 - 274	3	0,43	0,37	-0,04	0,12	0,07
DIC11	58	162 - 172	4	0,56	0,34	-0,01	0,12	0,33
DIC12	56	268 - 282	3	0,69	0,52	0,26	0,11	0,34
Mean			3,8	0,49	0,59	0,10	0,15	0,24

A_T: *Primer* annealing temperature (°C); A: Number of alleles; H_O: observed heterozygosity; He: expected heterozygosity; I: Shannon's index, F_{IS}: inbreeding coefficient, F_{ST}: fixation index, F_{IT}: overall fixation index.

Table 3 - Genetic parameters of eight microsatellite markers of *Dicksonia sellowiana* populations collected in Brazil.

Population	Ho	He	F_{IS}	F_{ST}	Nm
ES1	0,60	0,45	-0,32		
ES2	0,55	0,46	-0,21		
MG1	0,18	0,38	-0,53		
MG2	0,45	0,43	0,03		
RJ1	0,25	0,38	0,28		
RJ2	0,13	0,39	0,57		
SP1	0,19	0,34	0,57		
SP2	0,34	0,47	0,20		
PR1	0,58	0,61	0,03		
PR2	0,73	0,64	0,15		
SC1	0,78	0,65	-0,21		
SC2	0,51	0,64	0,18		
RS1	0,50	0,58	0,12		
RS2	0,51	0,60	0,13		
Mean	0,45	0,50	0,08	0,15	1,89

H_O: observed heterozygosity; He: expected heterozygosity. F_{IS}: inbreeding coefficient, F_{ST}: fixation index, N_m: gene flow among individuals.

Table 4 – Analysis of Molecular Variance (AMOVA) of 14 populations of *Dicksonia sellowiana* from the Atlantic Forest.

Source of variation	d.f.	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation	p*
Among populations	13	189,6	0,305	12	< 0,001
Among individuals within groups	253	751,9	0,659	25	< 0,001
Among indivuduals within populations	267	441,5	1,654	63	< 0,001
Total	553	1383,08	2,618	100	
Fixation index = $F_{ST:}$ 0,12					

d.f.: degrees of freedom; *p = significance tests (1023 permutations)

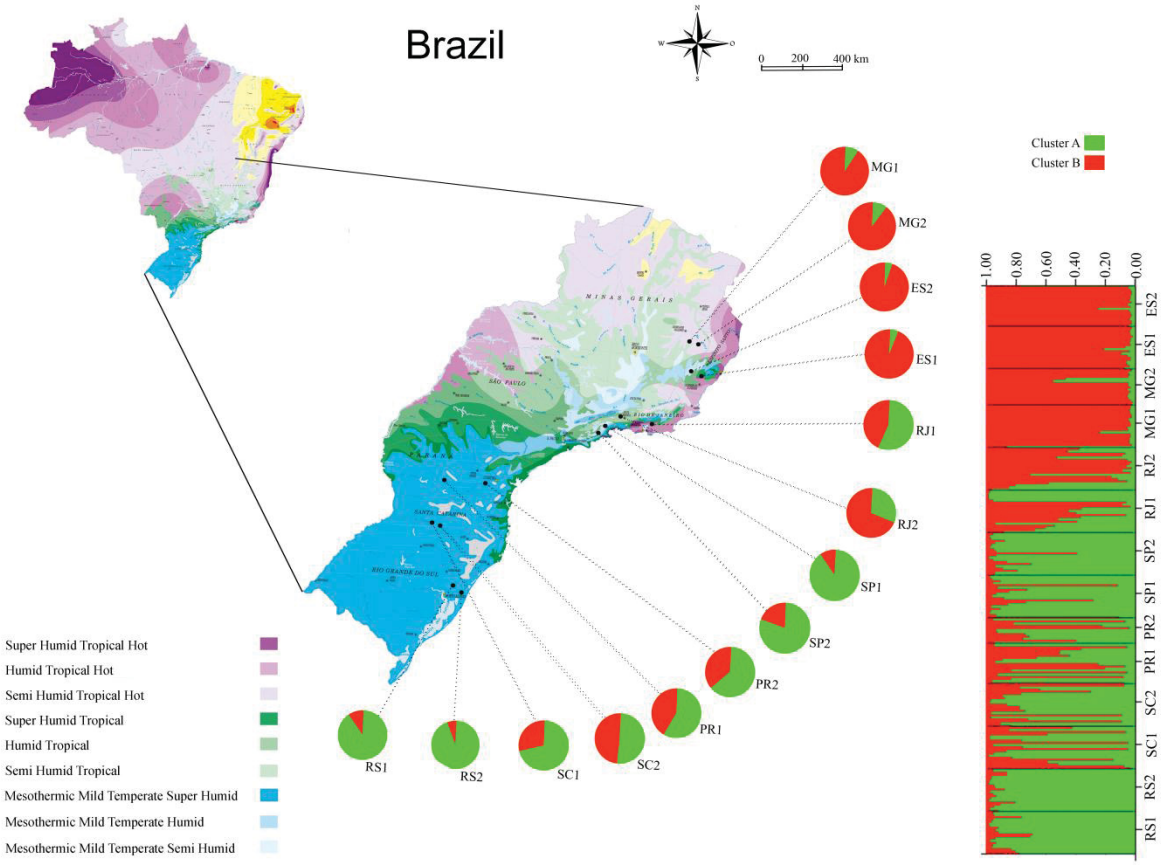


Figure 1 – Genetic structure of *Dicksonia sellowiana* Hook. according to the genetic (K) clusters established by Bayesian analysis using eight SSR loci (Table 2). The populations sampled are identified in the Brazilian Climate Map (IBGE 2002). The colors correspond to the climatic categories according to the IBGE (2002) and in the legend are shown only the categories where the populations of the species studied were sampled.

4. CAPÍTULO III

FILOGEOGRAFIA DE *Dicksonia sellowiana* Hook. (DICKSONIACEAE): UM ESTUDO DE CASO DA SUA HISTÓRIA NO NEOTRÓPICO

Capítulo formatado de acordo com as normas da revista Genetics and Molecular Biology (ISSN 1415-4757 impressa).

FILOGEOGRAFIA DE *Dicksonia sellowiana* Hook. (DICKSONIACEAE): UM ESTUDO DE CASO DA SUA HISTÓRIA NO NEOTRÓPICO

Bruna Saviatto Fagundes[1,2] & Valéria Cunha Muschner[1,2]

[1] Graduate Program in Ecology and Conservation, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brazil.

[2] Laboratory of Plant Molecular Ecology, Departamento de Botânica, Centro Politécnico, Universidade Federal do Paraná, PO Box 19031, CEP: 81531 -990, Curitiba, PR, Brazil.

**Versão em português (Brasil) do artigo (PHYLOGREOGRAPHY OF Dicksonia sellowiana* Hook. (DICKSONIACEAE): A CASE STUDY OF IT HISTORY IN NEOTROPIC) *o qual será submetido no periódico Genetics and Molecular Biology (ISSN 1415-4757 impressa).*

Resumo:

Neste trabalho, resumimos o conhecimento sobre a filogeografia do gênero *Dicksonia* e utilizamos *Dicksonia sellowiana* como principal foco a fim de ampliar os caminhos para futuros estudos com pteridófitas no Neotrópico. Nosso objetivo foi de obter uma visão preliminar da filogeografia do gênero região neotropical e na Oceania e compreender como os haplótipos estão distribuídos nos continentes, considerando a história evolutiva do grupo. Para isso, utilizamos 87 sequências do espaçador intergênico *trnL-trnF* do cpDNA de espécies *Dicksonia* e quatro de *Lophosoria* spp. (como grupo externo), a fim de interpretamos a distribuição dos haplótipos nos principais grupos frente à localização geográfica de cada espécie. Foram identificados 33 haplótipos no total. *Dicksonia sellowiana* compartilha cinco haplótipos com outras espécies do gênero no Neotrópico.

Nos países da Bolívia, Peru e Colômbia foi identificado o maior número de haplótipos no gênero. Nossos dados viabilizam o uso da região espaçadora intergênica *trnL-trnF* para futuros estudos filogeográficos com pteridófitas e sugerem que as espécies de *Dicksonia* se diversificaram no Neotrópico em função das oscilações climáticas ocasionadas pela formação dos Andes.

Palavras – chave: Pteridophyta; Diversificação; Dispersão; Cordilheira dos Andes; Região Neotropical.

INTRODUÇÃO

O gênero *Dicksonia* pertence à ordem Cyatheales, família Dicksoniaceae, cujas espécies são caracterizadas pelas frondes pinadas e largas com um a quatro metros de comprimento (Pio Corrêa 1931; Fernandes, 2000). Esse gênero é o mais abundante em número de espécies, seguido de *Lophosoria* e *Calochlaena* (Korall *et al.,* 2006; Noben *et al.,* 2017). Taxonomicamente, existem 25 espécies classificadas no gênero *Dicksonia*, as quais são encontradas em ambientes úmidos e com temperaturas temperadas a frias, nas regiões ao norte da Austrália, Nova Zelândia, Malásia, sul da América do Norte (México), América Central e do Sul (Kramer and Green 1990). As espécies *D. sellowiana, D. gigantea* H. Karst*., D. karsteniana* T. Moore e *D. stuebelli* Hieron. são endêmicas do Neotrópico (Tryon 1982; Perez-Garcia 1995). A região neotropical inclui o sul do México, América Central e do Sul e é considerada uma das regiões com maior riqueza de espécies do planeta (Antonelli e Sanmartín, 2011).

A ampla distribuição de *Dicksonia* pode ser explicada a partir da associação das mudanças geofísicas do globo terrestre e eventos tectônicos com as características reprodutivas das espécies (McLoughlin 2001; Noben *et al.,* 2017). O tectonismo provocou mudanças no clima e na geografia dos continentes e, durante a história evolutiva

do planeta, a origem das formações vegetais acompanhou os ciclos climáticos desde o período do Terciário (McLoughlin 2001). As pteridófitas do gênero, assim como muitas outras espécies da fauna e flora, responderam a essas mudanças com adaptação e extinção (Korall et al. 2006; Korall e Pryer 2014). Esses processos podem ser consequência da vicariância da Gondwana que resultou na distribuição histórica das linhagens do gênero e posteriormente, adaptação do sistema reprodutivo com capacidade de dispersão a longa distância (Sanmartin e Ronquist, 2004).

A biologia reprodutiva de *Dicksonia,* assim como ocorre na maioria das pteridófitas, é pouco compreendida quando comparada com o sistema reprodutivo das Angiospermas (Bonacorsi e Leslie, 2018). O que sabemos até o momento é que o ciclo de vida é longo, com duas fases de vida livre: gametofítica e esporofítica. As fases são distintas quanto à morfologia e fisiologia das estruturas e suas respectivas necessidades ecológicas (Bonacorsi e Leslie, 2018). Cada uma das fases de vida do indivíduo, impõe restrições quanto à distribuição da espécie*,* como dependência de água e temperaturas mais amenas. Essas pteridófitas possuem dispersão a longa distância e é efetiva em função dos esporos apresentarem morfologia granulada, tamanho pequeno, são resistentes à temperaturas baixas e são dispersados facilmente com as chuvas e umidade (Filippini *et al.*, 1999; Gomes *et al.,* 2006).

A dispersão a longa distância somada às mudanças climáticas que ocorreram em sucessivos anos durante o período de formação dos continentes que conhecemos atualmente influenciaram na distribuição de *D. sellowiana, D. gigantea, D. karsteniana* e *D. stuebelli* na região Neotropical. Essas espécies são recentes com possível origem a partir da metade do período do Mioceno, ou seja, ~10 M.a. (milhões de anos) atrás (Noben et al., 2017). O possível ancestral comum dessas espécies endêmicas da América possui origem durante o Eoceno (~50 M.a.) e sabe-se que esse ancestral é comum entre todas as

espécies de *Dicksonia* Neotropicais e Australianas (Noben et al., 2017). Os estudos com espécies de *Dicksonia* americanas apresentaram variação limitada nas sequências de DNA cloroplastidial (cpDNA), no entanto os polimorfismos genéticos foram suficientes para definir a filogenia entre os táxons (Korall et al., 2006; Noben et al., 2017). As espécies *D. sellowiana, D. gigantea, D. karsteniana* e *D. stuebelli* possuem 96% de homologia e estão resolvidas em dois grupos filogenéticos, onde *D. sellowiana* é grupo irmão dessas espécies, correspondendo à espécie mais recente de todo o gênero (Período do Plioceno, ~1 M.a). *Dicksonia antarctica, D. timorensis* e *D. fibrosa* são endêmicas da Oceania e possuem o mesmo ancestral comum que as espécies americanas (Noben et al., 2017).

Apesar dos registros fósseis que evidenciam a presença de algumas espécies de pteridófitas no início do Triássico (Van Konijnenburg-VanCittert 2002), as espécies de *Dicksonia* da América Central e do Sul são as mais recentes quando comparadas a outros gêneros da família Dicksoniaceae. Portanto, os processos de especiação que envolveram a origem de *D. sellowiana, D. gigantea, D. karsteniana* e *D. stuebelli* podem estar associados aos domínios climáticos característicos do Mioceno (McLoughlin, 2001). Após o Eoceno, as temperaturas sofreram decréscimo ao longo de todo o gradiente latitudinal do planeta, o que diminuiu a umidade na atmosfera, caracterizando um clima mais seco restringindo as áreas de florestas úmidas (Lieberman 2003; Woodward et al. 2004; Donoghue 2008; Slik et al. 2018). A restrição de território, em função dos domínios climáticos, pode ter criado barreiras climáticas entre as populações de *Dicksonia* do Neotrópico e isso pode ter induzido os processos de especiação que resultaram nas espécies conhecidas atualmente (Tryon, 1972; Garreaud, 2009; Antonelli e Sanmartin, 2011; Bonacorsi e Leslie, 2018). Deste modo, apesar de compreendermos a possível origem em escala temporal de *Dicksonia* no Neotrópico, é importante aprofundar as

análises filogeográficas com essas espécies a fim de conhecer o padrão de distribuição de um táxon em um território com amplo gradiente latitudinal.

Dentre as espécies citadas do gênero *Dicksonia* que ocorrem nas Américas, a *D. sellowiana* é a que possui maior área de distribuição em relação à *D. gigantea, D. karsteniana* e *D. stuebelli.* Nesse trabalho, reunimos combinações de uma região de cpDNA (espaçador intergênico *trnL-trnF*) de indivíduos de *D. sellowiana* da Nicarágua, Bolívia, Peru e das regiões Sudeste e Sul do Brasil (presente estudo) com outras espécies do gênero do Neotrópico e da Oceania. Especificamente, pretendemos discutir uma visão preliminar da filogeografia de *D. sellowiana* e sua relação ancestral com as outras espécies do gênero a fim de subsidiar futuras pesquisas com o gênero para compreender a evolução do grupo no Neotrópico.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostragem

Esse estudo é baseado na amostragem de 79 sequências do espaçador intergênico *rps4-trnS* de indivíduos de *D. sellowiana* distribuídos nos Estados do Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, do Brasil. Além do espaçador intergênico *rps4-trnS,* nós avaliamos a variabilidade genética em 91 sequências do espaçador intergênico *trnL-trnF* do DNA do cloroplasto de representantes do gênero *Dicksonia* e do gênero irmão *Lophosoria*. Na Tabela 1, estão identificadas as amostras de *Dicksonia* do continente Americano e da Oceania. Sessenta e sete sequências dos estudos de Korall et al. (2006) e Noben et al. (2017) foram obtidas a partir do GenBank, 22 são de amostras de *D. sellowiana* que foram coletadas por nosso grupo de pesquisa, em áreas nativas de Mata Atlântica no Brasil e três são oriundas de exsicatas disponíveis no herbário do Instituto de Botânica de São Paulo, Brasil.

Tabela 1 – Espécies do gênero *Dicksonia* e *Lophosoria* da América e da Oceania amostradas com a localização geográfica (Estado e/ou País), número de indivíduos e número do *GenBank.*

Espécie	Localização (Estado/ País)	N	GenBank
Dicksonia sellowiana	Espírito Santo (Brazil – BR)	6	*
	Minas Gerais (BR)	4	*
	Paraná (BR)	3	*
	Santa Catarina (BR)	2	MF066498 MF066497
	Rio Grande do Sul (BR)	9	*
	Nicarágua	1	*
	Bolívia	1	*
	Peru	1	*
Dicksonia gigantea	Costa Rica	2	MF066483 AM410357
	Colômbia	2	MF066493 MF066494
	Nicarágua	1	MF066484
Dicksonia karsteniana	Bolívia	1	MF066486
	Equador	1	MF066487
	Peru	4	MF066488 MF066489 MF066490 MF066491
	Colômbia	1	MF066492
Dicksonia stuebelii	Peru	1	MF066485
Dicksonia blumei	Indonésia	1	AY626843

		1	AY626841
Dicksonia antarctica	Austrália	1	AM410355
		1	MF066499
Dicksonia timorensis	Indonésia	1	MF066503
Dicksonia fibrosa	Indonésia	3	MF066500 MF066501 MF066502
Dicksonia sp. nov.	Colômbia	2	MF066495 MF066496
Lophosoria quesadae	Costa Rica	2	MF066551 MF066552
Lophosoria quadripinnata	Bolívia	2	MF066549 MF066550

* - sequências obtidas no presente trabalho e ainda não disponibilizadas e depositadas no *GenBank.*

Extração de DNA

Para evitar a degradação de DNA, o material vegetal de *D. sellowiana* do Brasil foi coletado e conservado em sílica gel. O DNA das amostras do Brasil foi extraído por meio do protocolo baseado na técnica de Roy et al. (1992). O DNA das amostras de *D. sellowiana* oriundas do herbário (Nicarágua, Bolívia e Peru) foi extraído por meio do protocolo baseado na técnica de Sharma et al. (2008). Posteriormente o DNA foi armazenado a -20°C.

Sequenciamento do DNA

As sequências do espaçador intergênico *trnL-trnF* do DNA do cloroplasto (cpDNA) foram analisadas nos indivíduos de *D. sellowiana* conforme listado na Tabela 1. A região foi amplificada com *primers* descritos por Taberlet et al. (1991). Além desse marcador, foram analisadas as sequências do espaçador intergênico *rps4-trnS* do cpDNA (Nadot *et al.,* 1995).

As amplificações foram conduzidas em um volume final de reação de 10 µL contendo: 20 ng de DNA genômico, 0,2 mM de dNTP, 1,5 mM de $MgCl_2$, 1 U de *Taq* DNA Polimerase, 1X de tampão e 0,2 µM de cada *primer* da região *trnL-trnF* ou 0,5µM de cada *primer* da região *rps4-trnS*. Para a amplificação, o termociclador foi programado para desnaturação inicial a 94°C por 4 min, seguido de 30 ciclos com temperatura de anelamento do *primer* por 1 min, extensão a 72°C por 1 min, com extensão final dos fragmentos a 72ºC por 10 minutos. As temperaturas de anelamento para os *primers* das regiões intergênicas *trnL-trnF,* e *rps4-trnS* foram 54°C e 50°C, respectivamente.

Os resultados das reações foram previamente avaliados em gel de agarose 2% corado com brometo de etídio (0,5 µg mL^{-1}). O sequenciamento do DNA foi realizado para ambas fitas do DNA em sequenciador automático ABI 3130 – Genetic Analizer (*Applied Biosystems*), seguindo os protocolos que acompanham o equipamento, com marcação terminal fluorescente. As condições da reação de sequenciamento para um volume final de 10 µl continham 0,5 µl de *BygDye*, 0,10 µM de cada primer, tampão 0,25X e 30 ng de DNA. As reações foram realizadas em termociclador programado para desnaturação inicial a 96°C por 1 min, seguido de 35 ciclos com temperatura de anelamento de 50°C por 5 s, extensão a 60°C por 4 min.

Análise das sequências e obtenção dos dados

As sequências foram alinhadas usando o algoritmo MUSCLE (Edgar, 2004), implementado no programa MEGA 6.0 – *Molecular Evolutionary Genetics Analysis* (Tamura *et al.,* 2013) e corrigidas manualmente quando necessário. Estatísticas básicas de diversidade genética, incluindo número de sítios variáveis (V), número de sítios parcimoniosamente informativos (PI), número de haplótipos (h), diversidades nucleotídica (π) e de haplótipos (Hd) foram estimados usando MEGA 6.0, programa

Arlequin ver 3.5.1.3 (Excoffier *et al.,* 2005) e DnaSP v5 (Librado e Rozas, 2009). Uma rede de haplótipos foi construída usando a abordagem de *median-joining* (MJ; Bandelt *et al., 1999*), implementada no software NETWORK 4.6.0.0 (http://www.fluxus-engineering.com), a fim de descrever as relações filogenéticas, geográficas e potencial ancestral-descendente entre as sequências. As sequências das regiões dos espaçadores *trnL-trnF* e *rps4-trnS* de *D. sellowiana* serão depositadas no *GenBank,* posteriormente.

RESULTADOS

As sequências do espaçador intergênico *rps4-trnS* dos indivíduos de *D. sellowiana* brasileiras (495 pb) são idênticas e resultaram, portanto, em um único haplótipo. Deste modo, a filogeografia da espécie foi analisada a partir das sequências do espaçador *trnL-trnF*.

As sequências do espaçador intergênico *trnL-trnF* foram alinhadas e o alinhamento final conteve 475 pb (pares de base), incluindo 159 sítios variáveis e 146 parciomoniosamente informativos. Dentre as espécies de *Dicksonia* e *Lophosoria*, esses polimorfismos identificaram 33 haplótipos. Destes, quatro pertencem à *D. sellowiana* e são compartilhados com oito haplótipos entre as espécies do Neotrópico e cinco indivíduos da Austrália e Indonésia. Vinte haplótipos são exclusivos de espécies de *Dicksonia* da Oceania e se diferenciam de *D. sellowiana* por, provavelmente, um único evento de inserção/deleção de seis nucleotídeos (Figura 1).

Já que o foco desse estudo é a espécie *D. sellowiana*, nos ateremos aos haplótipos (H) compartilhados entre *D. sellowiana* e as espécies filogeneticamente mais próximas. Nas Figuras 1 e 2 podemos observar que H1 forma o núcleo da topologia da rede com 31 indivíduos de *Dicksonia* spp. da América do Sul e Central (Tabela 2) e nele estão conectados nove haplótipos do gênero *Dicksonia* e dois de *Lophosoria* (utilizado como

outgroup e que, além de 20 substituições nucleotídicas [12 transições/8 transversões], se diferenciam das espécies do *ingroup* pela presença de três *indel* de 2, 4 e 25 nucleotídeos). O maior número de haplótipos foi encontrado na Bolívia (H1, H2, H11 e H12), no Brasil (H1, H3 e H4), e no Peru (H1, H9 e H10; Figura 2; Tabela 2). Os haplótipos H11 e H12 correspondem à diversidade dentro do gênero *Lophosoria.* O menor número de haplótipos foi observado nos países da América Central (Tabela 2). A diversidade nucleotídica (π) para *Dicksonia* variou de 0 a 0,11, com valor médio de 0,006 para o gênero (Tabela 2). Em *Lophosoria,* a diversidade nucleotídica média para a região da Bolívia e Costa Rica foi de 0,11.

Tabela 2 – Localização (País), riqueza de haplótipos e diversidade nucleotídica (π) de nove espécies do gênero *Dicksonia* distribuídas no Neotrópico e na Oceania.

País	Haplótipo (s)	Diversidade nucleotídica (π)
Brasil (BR)	H1, H3 e H4	0,006
Bolívia	H1 e H2	0,014
Peru	H1, H9, H10	0,010
Equador	H2	0,000
Colômbia	H2 e H8	0,011
Nicarágua	H1	0,000
Costa Rica	H1	0,000
Austrália	H5 e H6	0,009
Indonésia	H6 e H7	0,007

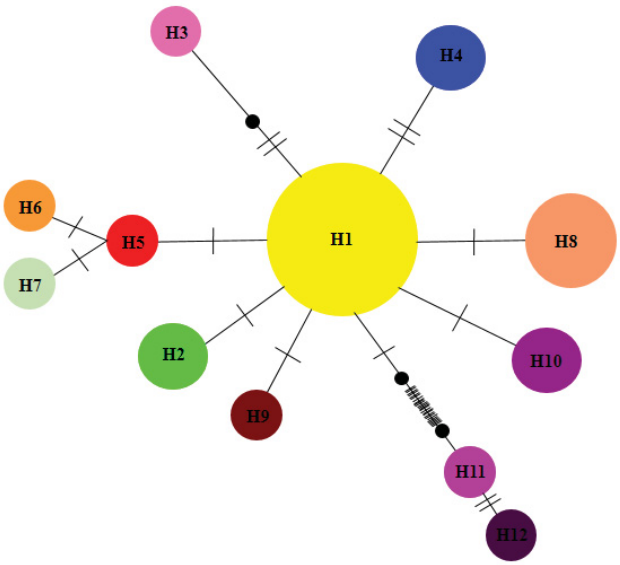


Figura 1 - Relações entre haplótipos de linhagens de *Dicksonia* e *Lophosoria* (*outgroup*). Rede de haplótipos baseada em sequências do espaçador intergênico *trnL-trnF* de cpDNA. O tamanho da circunferência é proporcional à frequência do haplótipo. O número de mutações é mostrado nos ramos e os pequenos círculos pretos representam os vetores médios.

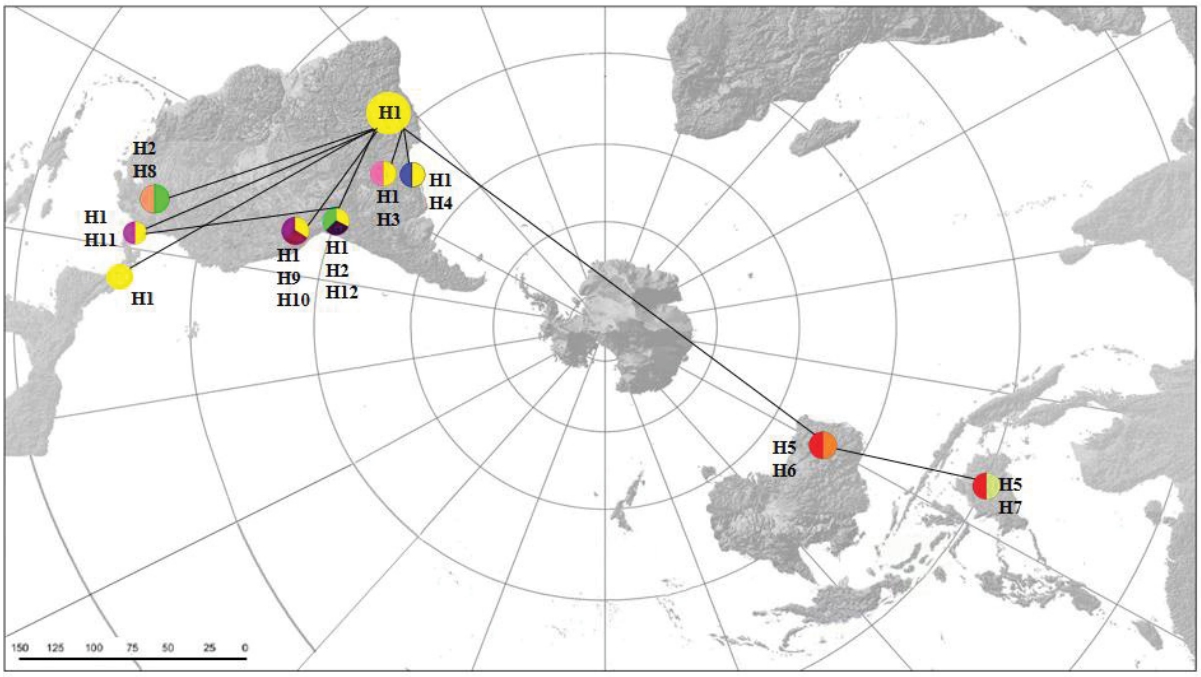


Figura 2 – Mapa das localidades de *Dicksonia* spp. A distribuição geográfica da rede dos haplótipos (gráficos de pizza) é mostrada para o espaçador intergênico *trnL-trnF* do cpDNA. A localização das amostras de *D. sellowiana, D. karsteniana, D. stuebelii, D. gigantea, D. antarctica, D. timorenses, Lophosoria quadripinnata* e *Lophosoria quesadae* é baseada nos registros do voucher especificado na tabela 1.

DISCUSSÃO

Diversidade Genética de Dicksonia spp.

As diferenças nas posições nucleotídicas está relacionada com a taxa de evolução do marcador e com a idade de origem do táxon estudado (Palmer, 1987; Collevatti *et al.,* 2003; Quandt *et al.,* 2004; Pinheiro *et al.,* 2018). A região espaçadora intergênica *rps4-trnS* de cpDNA estudada aqui, não apresentou variabilidade nucleotídica intraespecífica para *D. sellowiana*, provavelmente devido ao processo de diversificação recente da espécie (~2 M.a.), já registrado por Noben et al. (2017). O número de mutações que ocorrem no DNA dessa organela geralmente é pequeno e ocorre em regiões não codificadoras por meio de adição ou deleção de bases (Palmer, 1987; Collevatti *et al.,* 2003). A taxa de evolução do cpDNA é cinco vezes mais lenta do que a de outros marcadores nucleares como o SSR, por exemplo, o que caracteriza essas regiões serem altamente conservadas (Palmer, 1987; Collevatti *et al.,* 2003).

Por outro lado, o espaçador intergênico *trnL-trnF* apresentou polimorfismo, o que nos permitiu analisar a diversidade genética de *D. sellowiana* e compará-la com outras espécies do gênero previamente publicadas (Korall *et al.,* 2007; Noben *et al.,* 2017). A análise indica que existe uma relação entre a distribuição dos haplótipos do gênero *Dicksonia* e a história de formação do Neotrópico. O índice de diversidade nucleotídica (π = 0,006) do gênero *Dicksonia* é menor do que o relatado em outras espécies de pteridófitas, como *Alsophila spinulosa* (π = 0,11; Su *et al.,* 2004), *Asplenium hookerianum* (π = 0,21; Shepherd, 2007) e *Lophosoria* spp. (π = 0,11; neste trabalho). Deste modo, o maior número de haplótipos foi observado nas regiões da Bolívia, Peru e Colômbia, as quais são localizadas próximas à Cordilheira dos Andes, onde a riqueza de espécies de pteridófitas é maior (π = 0,14, π = 0,10 e π = 0,11, respectivamente; Tejedor, 2017; Sosa *et al.,* 2016). Consequentemente, nessas mesmas regiões o número de

haplótipos foi superior ao encontrado nos outros países (Figura 2) e nossos dados sugerem que a história de formação do Neotrópico influenciou na diversificação das pteridófitas da família Dicksoniaceae, como discutiremos a seguir.

Quais fatores podem estar associados à distribuição de Dicksonia?

Existem evidências consideráveis que indicam que fatores abióticos como o clima e a geomorfologia podem ter atuado na diversificação das espécies da flora no Neotrópico (Hoorn, 1993; Hoorn *et al., 1995;* Pastorino e Gallo, 2002; Pennington *et al.,* 2004; Lorenz-Lemke *et al.,* 2006; Miller *et al.,* 2008; Antonelli *et al.,* 2009; Lorenz-Lemke *et al.,* 2010). O gênero *Dicksonia* pode ser sugerido como um exemplo de especiação no Neotrópico, considerando a origem de *Dicksonia* (~10 M.a.) proposta por Noben et al. (2017). *Dicksonia sellowiana, D. gigantea, D. karsteniana* e *D. stuebelli* compartilham várias características morfológicas como porte arbóreo, frondes aglomeradas e reprodução dependente de água e estão intimamente relacionadas filogeneticamente (Tryon, 1972; Fernandes, 2000; Noben *et al.,* 2017).

A diferença na distribuição e que levou à especiação de *D. sellowiana, D. gigantea, D. karsteniana* e *D. stuebelli* no Neotrópico pode estar associada à adaptação à diferentes condições de precipitação, de acordo com as características climáticas de cada região (Tryon, 1972; Antonelli e Sanmartin 2011; Tejedor, 2017; Sosa *et al.,* 2016; Mallmann *et al.,* 2018). No norte dos Andes, a encosta leste que inclui o norte do Peru, Colômbia e Equador, possui chuvas alimentadas por umidade do ar oriundas da bacia Amazônica e do Golfo do Panamá (Garreaud, 2009). Essas regiões são caracterizadas por terem grandes quantidades de vapor de água o que favorece a dispersão de esporos de *Dicksonia* e acelera o crescimento dos gametófitos (Filippini *et al.,* 1999; Fiori *et al.,* 2009; Garreaud, 2009). Na América Central, sul da Bolívia, Chile, Uruguai, Argentina e

Brasil, o clima é mais seco comparado à região norte dos Andes (Hoorn *et al.,* 1995; Pennington *et al.,* 2004). Esse gradiente de precipitação e umidade que existe no Neotrópico pode ter atuado como uma barreira na dispersão e desenvolvimento dos esporos de *Dicksonia*, limitando a distribuição das espécies e aumentando a diversificação de táxons onde a condição é mais favorável, ou seja, com alta umidade (Hoorn *et al.,* 1995; Pennington *et al.,* 2004; Tejedor, 2017).

A maioria dos modelos propostos para explicar a diversificação de espécies no Neotrópico postulam o importante papel dos Andes (Antonelli e Sanmartin 2011; Luebert e Weigend, 2014). Durante o processo de orogênese dos Andes (~20 M.a.), os táxons localizados na região norte da América do Sul contribuíram mais para a diversidade de espécies das regiões próximas à Cordilheira do que os táxons localizados ao sul do continente (Villagrán & Hinojosa, 1997; Antonelli e Sanmartin 2011). Essa hipótese é sustentada pela capacidade de dispersão a longa distância de alguns táxons, como por exemplo, as espécies de *Dicksonia* (Schneider *et al.,* 2004; Antonelli *et al.,* 2015; Bonacorsi e Leslie, 2018).

As regiões próximas aos Andes apresentam alta biodiversidade de pteridófitas e a riqueza de espécies sofre um declínio conforme aumenta a distância da cordilheira (Schneider *et al.,* 2004; Salazar *et al.,* 2013; Tejedor, 2017). De acordo com a atual distribuição de *Dicksonia* no Neotrópico, as regiões com uma ou duas espécies (Brasil e América Central, respectivamente) são mais distantes dos Andes do que a Bolívia, Peru e Colômbia, por exemplo. Nas regiões andinas, existem quatro espécies de *Dicksonia* já descritas, uma espécie (*Dicksonia sp. nov.*) classificada como um novo táxon e algumas variedades, como por exemplo a *D. sellowiana var. arachneosa* a qual é endêmica do Equador (Tryon, 1972). A alta riqueza do gênero próximo à Cordilheira reflete na diversidade genética desses grupos, como visto a partir dos nos nossos dados (Figura 2).

Esse cenário pode ser reflexo do papel dos Andes como uma barreira da umidade do mar do oceano Atlântico (Garreaud, 2009). Na regiões que abrangem o norte da Bolívia até a Colômbia a média da precipitação anual aumentou exponencialmente em função dessa alta umidade, o que torna as condições desses ambientes ideal para o desenvolvimento de *Dicksonia,* possibilitando uma diferenciação intraespecífica, como observado na figura 3 (Garreaud, 2009; Bonacorsi e Leslie, 2018).

Compreender a dinâmica de origem de *Dicksonia* no Neotrópico é um desafio, pois precisamos considerar que os biomas neotropicais mudaram ao longo dos anos (Jaramillo e Cárdenas, 2013). Quando consideramos a história de formação das regiões neotropicais e a influência dos Andes com a recente origem do gênero a partir de um ancestral comum, entendemos porque existem haplótipos compartilhados entre espécies diferentes (Tabela 2). Além disso, existem mais de 16 espécies do gênero que ocorrem na Oceania e dentre essas, quatro possuem haplótipos derivados (H5 e H6) diretamente do H1 e diferenciados por uma mutação (Figura 1; Tryon 1970). O cenário observado com os nossos dados corrobora com o proposto por Noben et al. (2017), onde existe uma relação próxima entre espécies de *Dicksonia* da Oceania e do Neotrópico, uma vez que todas derivaram de um único ancestral recentemente (Noben et al. 2017).

Sabemos que em nosso trabalho existe uma limitação na amostragem, tanto em relação ao número de indivíduos por espécie quanto ao número de marcadores. Porém, a região espaçadora intergênica *trnl-trnF* mostrou-se potencialmente útil para responder problemas filogeográficos em *Dicksonia*. Deste modo, esse é o primeiro passo dos trabalhos futuros que desenvolveremos para conhecer a filogeografia do gênero *Dicksonia*. Encorajamos estudos complementares com outras pteridófitas a fim de compreendermos os processos envolvidos na distribuição e história das espécies com fins de conservação do grupo frente às mudanças climáticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICOS

Antonelli A and Sanmartín I (2011) Why are there so many plant species in the Neotropics? Taxon 60:403–414.

Antonelli A, Nylander JAA, Persson C, Sanmartín I (2009) Tracing the impact of the Andean uplift on Neotropical plant evolution. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 106:9749–9754.

Antonelli A, Zizka A, Silvestro D, Scharn R, Cascales-Miñana B and Bacon CD (2015) An engine for global plant diversity: highest evolutionary turnover and emigration in the American tropics. Frontiers in Genetics 6:130.

Bandelt HJ, Forster P and Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol Biol Evol 16:37-48.

Bonacorsi NK and Leslie AB (2018) Functional diversity and convergence in the evolution of plant reproductive structures. Annals of Botany. In press.

Collevatti RG, Grattapaglia D, Hay JD (2003) Evidences for multiple maternal lineages of *Caryocar brasiliense* populations in the Brazilian Cerrado based on the analysis of chloroplast DNA sequences and microsatellite haplotype variation. Molecular Ecology 12:105-115.

Donoghue MJ (2008) A phylogenetic perspective on the distribution of plant diversity. PNAS 105:11549-11555.

Excoffier L, Laval G and Schneider S (2005) Arlequin version 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evol Bioinform Online 1:47-50.

Edgar RC (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. Nucleic Acids Res 32:1792-1797.

Fernandes, I. 2000. Taxonomia dos representantes de Dicksoniaceae no Brasil. *Pesquisas* 50: 5-26.

Filippini ECP, Duz SR and Randi AM (1999) Light and storage on the germination of spores of *Dicksonia sellowiana*. Revista Brasileira de Botânica 22:21-26.

Fiori CCL, Santos M and Randi AM (2009) Aspects of gametophyte development of *Dicksonia sellowiana* Hook (Dicksoniaceae): an endangered tree fern indigenous to South and Central America. American Fern Society 207-216.

Garreaud RD (2009) The Andes climate and weather. Adv Geosci 22:3-11.

Gomes GS, Randi AM, Puchalski A, Santos DS and Reis MS (2006) Variability in the germination of spores among and within natural populations of the endangered tree fern *Dicksonia sellowiana* Hook. (Xaxim). Brazilian Archives of Biology and Technology 49(1):1-10.

Harris SA and Ingram R (1991) Chloroplast DNA and Biosystematics: The Effects of Intraspecific Diversity and Plastid Transmission. Taxon 40(3):393-412.

Hoorn C (1993) Marine incursions and the influence of Andean tectonics on the Miocene depositional history of northwestern Amazonia: Results of a palynostratigraphic study: Palaeoclimatology, Palaeogeography, Palaeoecology 105:267–309.

Hoorn C, Guerrero J, Sarmiento GA, Lorente MA. 1995. Andean tectonics as a cause for changing drainage patterns in Miocene northern South America. *Geology* 23: 237-240.

Jaramillo C, Cárdenas A (2013) Global warming and Neotropical rainforests: A historical perspective. Annu Rev Earth Planet Sci 41:741–766

Korall P and KM Pryer (2014) Global biogeography of scaly tree ferns (Cyatheaceae): Evidence for Gondwanan vicariance and limited transoceanic dispersal. Journal of Biogeography 41:402–413.

Korall P, Pryer KM, Metzgar JS, Schneider H and Conant DS (2006) Tree ferns: monophyletic groups and their relationships as revealed by four protein-coding plastid loci. Molecular Phylogenetics and Evolution 39:830–845.

Korall P, Conant DS, Metzgar JS, Schneider H and Pryer KM (2007) A molecular phylogeny of scaly tree ferns (Cyatheaceae). American Journal of Botany 94(5): 873-886.

Kramer K and Green P (1990) The families and genera of vascular plants: Volume 1– Pteridophytes and Gymnosperms Berlin Spinger Verlag.

Librado P and Rozas J (2009) DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics 25:1451-1452.

Lieberman BS (2003) Paleobiogeography: the relevance of fossils to biogeography. Ann Rev Ecol Evol Syst 34:51-69.

Lorenz-Lemke AP, Mäder G, Muschner VC, Stehmann JR, Bonatto SL, Salzano FM, Freitas LB. 2006. Diversity and natural hybridization in a highly endemic species of Petunia (Solanaceae): a molecular and ecological analysis. Molecular Ecology 15: 4487–4497.

Lorenz-Lemke AP, Togni PD, Mäder G, Kriedt RA, Stehmann JR, Salzano FM, Bonatto SL, Freitas LB (2010) Diversification of plant species in a subtropical region of eastern South American highlands: a phylogeographic perspective on native Petunia (Solanaceae). Molecular Ecology 19: 5240–5251.

Luebert F and Weigend M (2014) Phylogenetic insights into Andean plant diversification. Frontiers in Ecology and Evolution 2:Article 27

Mallmann, I. T. et al. 2018. Spatial distribution analysis of Dicksonia sellowiana Hook. in Araucaria forest fragments with different sizes. *Brazilian Journal of Biology* [online]. In press.

McLoughlin S (2001) The breakup history of Gondwana and its impact on pre Cenozoic floristic provincialism. Australian Journal of Botany 49:271–300.

Miller MJ, Bermingham E, Klicka J, Escalante P, Do Amaral FSR, Weir JT, Winker K. (2008) Out of Amazonia again and again: episodic crossing of the Andes promotes diversification in a lowland forest flycatcher. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 275: 1133–1142.

Morris AB and Shaw J (2018) Markers in time and space: A review of the last decade of plant phylogeographic approaches. Mol Ecol 27:2317–2333.

Nadot S, Bittar G, Carter L, Lacroix R and Lejeune B (1995) A phylogenetic analysis of monocotyledons based on the chloroplast gene rps4, using parsimony and a new numerical phenetics method. Molec Phylogen Evol 4:257–282.

Neale DB and Sederoff RR (1989) Paternal inheritance of chloroplast DNA and maternal inheritance of mitochondrial DNA in loblolly pine. Theoretical and Applied Genetics 77:212-216.

Noben S, Kessler M, Quandt D, Krug M, Weigand A and Lehnert M (2017) Biogeography of the Gondwanan tree fern family Dicksoniaceae — A tale of vicariance, dispersal and extinction. Journal of Biogeography 41(2): 402–413.

Palmer JD (1987) Chloroplast DNA evolution and biosystematic uses of chloroplast DNA variation. American Naturalist 130:6-29.

Pastorino MJ and Gallo LA (2002) Quaternary evolutionary history of Austrocedrus chilensis, a cypress native to the Andean–Patagonian forest. Journal of Biogeography 29: 1167–1178.

Pennington RT, Lavin M, Prado DE, Pendry CA, Pell SK, Butterworth CA (2004) Historical climate change and speciation: neotropical seasonally dry forest plants show patterns of both Tertiary and Quaternary diversification. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 359: 515–537.

Perez-garcia B (1995) Dicksoniaceae. Flora Mesoamericana 1:86-88.

Pinheiro F, Dantas-Queiroz MV and Palma-Silva C (2018): Plant Species Complexes as Models to Understand Speciation and Evolution: A Review of South American Studies. Critical Reviews in Plant Sciences In press.

Pio Corrêa M (1931) Dicionário das plantas úteis do Brasil. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura 2:209-210.

Quandt D, Müller K, Stech M, Frahm JP, Frey W, Hilu KW and T Borsch (2004) Molecular evolution of the chloroplast *trn*L-F region in land plants. Monogr Syst Bot Missouri Botanic Garden 98:13–37.

Salazar L, Homeier J, Kessler M, Abrahamczyk S, Lehnert M, Krömer T and Kluge J (2013). Diversity patterns of ferns along elevational gradients in Andean tropical forests. Plant Ecology and Diversity 8:13-24.

Sanmartın I and Ronquist F (2004) Southern Hemisphere biogeography inferred by event-based models: Plant versus animal patterns. Systematic Biology 53:216–243.

Schneider H, Schuettpelz E, Pryer KM, Cranfill R, Magall S and Lupia R (2004) Ferns diversified in the shadow of angiosperms. Nature 428:553–557.

Shaw J, Shafer HL, Leonard OR, Kovach MJ, Schorr M and Morris AB (2014) Chloroplast DNA sequence utility for the lowest phylogenetic and phylogeographic inferences in angiosperms: Thetortoise and the hare IV. Am J B 101:1987–2004.

Sharma K, Ajay KM, Raj SM (2008). A simple and efficient method for extraction of genomic DNA from tropical tuber crops. Afr J Biotechnol 7: 1018-1022.

Shepherd LD, Perrie LR and Brownsey PJ (2007) Fire and ice: volcanic and glacial impacts on the phylogeography of the New Zealand forest fern *Asplenium hookerianum* Molecular Ecology 16(21):4536–4549.

Slik JWF, Franklin J, Arroyo-Rodríguez V, Field R, Aguilar S, Aguirre N, Ahumada J, Aiba SI, Alves LF, et al. (2018) Phylogenetic classification of the world's tropical forests Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 115:1837-1842.

Sosa V. Ornelas JF, Ramírez-Barahona S and Gándara E (2016) Historical reconstruction of climatic and elevation preferences and the evolution of cloud forest-adapted tree ferns in Mesoamerica. PeerJ 2696:1–25.

Su Y, Wang T, Zheng B, Jiang Y, Chen G and Gu H (2004) Population genetic structure and phylogeographical pattern of a relict tree fern, Alsophila spinulosa (Cyatheaceae), inferred from cpDNA atpB- rbcL intergenic spacers. Theor Appl Genet 109: 1459.

Taberlet P, Gielly L, Pautou G and Bouvet J (1991) Universal primers for amplification of three noncoding regions of chloroplast DNA. Plant Mol Biol 17:1105–1109.

Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A and Kumar S (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. Mol Biol Evol 30:2725-2729.

Tejedor, A. (2017) Diversity and endemism of tree ferns (Cyatheaceae: Polypodiopsida) in the Central Andes along latitudinal and elevation gradients. *Acta Botanica Malacitana* 42(1):41-47.

Tryon RM (1970) Development and evolution of ferns floras of Oceanic Islands. Biotropica 2:76-84.

Tryon RM (1972) Endemic areas and geographic speciation in Tropical American ferns. Biotropica 4:121-131.

Tryon RM and Tryon AF (1982) Fern and allied plants with special reference to Tropical America. Springer-Verlag New York USA.

Van Konijnenburg-VanCittert JHA (2002) Ecology of some Late Triassic to Early Cretaceous ferns in Eurasia. Review of Palaeobotany and Palynology 119:113–124.

Villagrán C, Hinojosa LF (1997) Historia de los bosques del sur de Sudamérica, II: Análisis fitogeográfico. Revista Chilena de Historia Natural 70:1–267.

Woodward FI, Lomas MR and Kelly CK (2004) Global climate and the distribution of plant biomes. Phil Trans Royal Soc London B 359:1465-1476.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esse estudo contribui para conhecermos a taxonomia e o padrão genético de *Dicksonia sellowiana* no Neótropico e como os fatores climáticos influenciam na distribuição da espécie. Com os dados de genética de populações do Brasil, compreendemos que a espécie está estruturada geneticamente no bioma Mata Atlântica e a diversidade genética está correlacionada positivamente com a precipitação e a latitude das áreas de ocorrência. Essas informações são valiosas pois comprova, estatisticamente, que a espécie é melhor adaptada a ambientes úmidos que possuem uma média de precipitação alta e constante ao longo do ano em função do seu sistema reprodutivo. As hipóteses e teorias dos refúgios de espécies que visam compreender a dinâmica de distribuição da biodiversidade durante as oscilações climáticas do Pleistoceno são construídas a partir de estudos com diferentes táxons e nosso trabalho contribui com essas teorias.

Além da Mata Atlântica, a espécie possui distribuição disjunta no Neotrópico e ocorre em áreas florestais úmidas nos países próximos à Cordilheira dos Andes e em regiões da América Central e Sul do México. Os resultados obtidos com a região espaçadora intergênica *trnL-trnF* do cpDNA possibilitaram compreender, de forma preliminar, a dinâmica das espécies do gênero *Dicksonia* no Neotrópico a fim de contribuir para a construção da história do grupo em uma região com alta biodiversidade e importância para a conservação. Nossos dados permitiram inferir que o gênero possui uma tendência a apresentar maior diversidade genética nos indivíduos que habitam as regiões próximas à Cordilheira dos Andes, que incluem do norte da Bolívia até a Colômbia. Porém, muitos haplótipos são compartilhados entre as espécies e isso é observado em táxons com origem recente e corrobora com a idade proposta para o gênero no Neotrópico (~10 M.a.).

O cenário observado reflete a história de origem e distribuição do gênero na América, frente à oscilação climática e geológica que ocorreu durante o processo de formação do continente. Portanto, minha tese contribui para o conhecimento da dinâmica das espécies neotropicais e subsidia medidas de conservação para aprimorar as chances de adaptação de espécies ameaçadas às mudanças do habitat. Apesar da limitação na amostragem, tanto em relação ao número de indivíduos por espécie quanto ao número de marcadores, a região espaçadora intergênica *trnl-trnF* mostrou-se potencialmente útil para responder problemas filogeográficos em *Dicksonia*. Nossos próximos passos terão como objetivo aumentar o conjunto de amostras de modo a abranger toda a distribuição do gênero no Neotrópico para conhecer a filogeografia e história evolutiva de *Dicksonia.*

Dessa forma o conjuntos de dados apresentados nesse trabalho fornecem informações quanto à taxonomia e genética de *D. sellowiana* e viabiliza o delineamento de estratégias de conservação para reduzir o risco de extinção da espécie e preservar os biomas neotropicais que apresentam grande importância ecológica.

REFERÊNCIAS

Álvares-Carvalho, S. V., J. F. Duarte, T. C. Santos, R. M. Santos et al. 2016. Structure and genetic diversity of natural Brazilian pepper populations (*Schinus terebinthifolius Raddi*). *Genetics and Molecular Research* 15: 15.

Antonelli, A. and I. Sanmartín. 2011. Why are there so many plant species in the Neotropics? *Taxon* 60 403–414.

Arbogast, B.S., R.A. Browne and P.D. Weigl. 2001. Evolutionary genetics and Pleistocene biogeography of North American tree squirrels (Tamiasciurus). Journal of Mammalogy. 82:302-319.

Avise, J. C. 2000. *Phylogeography: The history and formation of species*. London: Harvard University Press.

Behling, H. 1997. Late Quaternary vegetation, climate and fire history in the Araucaria forest and campos region from Serra Campos Gerais Parana State (South Brazil). Review of Palaeobotany and Palynology 97: 109–121.

Behling. H. 2002. South and southeast Brazilian grassland during late Quaternary times: a synthesis. Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology 177: 19–27.

Brooks, T. M., R. A. Mittermeier, C. G. Mittermeier, G. A. B. Fonseca, A. B. Rylands, W. R. Konstant, P. Flick, J. Pilgrim, S. Oldfield, G. Magin, and C. Hilton-Taylor. 2002. Habitat loss and extinction in the hotspots of biodiversity. *Conservation Biology* 16: 909–923.

Carnaval A. C. and C. Moritz. 2008. Historical climate modeling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography* 35: 1187–1201.

Carnaval A.C., E. Waltari, M. T. Rodrigues, D. Rosauer, J. VanDerWal, R. Damasceno, I. Prates, M. Strangas, Z. Spanos, D. Rivera, M. R. Pie, C. R. Firkowski, M. R. Bornschein, L. F. Ribeiro and C. Moritz. 2014. Prediction of phylogeographic endemism in an environmentally complex biome. *Proceedings of the Biological sciences Royal Society* 281(1792): 20141461.

Carnaval, A. C. and J. M. Bates. 2007. Amphibian DNA shows marked genetic structure and tracks Pleistocene climate change in northeastern Brazil. *Evolution* 61: 2942-2957.

Cavers S. and C. W. Dick. 2013. Phylogeography of Neotropical trees. *Journal of Biogeography* 40: 615–617.

CBD (Convention on Biological Diversity). 2016. *The strategic plan for biodiversity 2011–2020 and the Aichi biodiversity targets*. Secretaria of the Convention on Biological Diversity. Disponível em: https://www.cbd.int/doc/decisions/cop-10/cop-10-dec-02-en.pdf. Acesso em julho de 2017.

CITES (Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora) - Apendices I, II and III, valid from 22 May 2009. Disponível em: http://www.cites.org/esp/app/appendices.html. Acesso em 01/05/2018.

FERNANDES, I. 2000. Taxonomia dos representantes de Dicksoniaceae no Brasil. Pesquisas 50:5-26.

Fine, P. V. A., F. Zapata and D. C. Daly. 2014. Investing processes of Neotropical rains forest tree diversifications by examining the evolution and historical biogeography of the Protieae (Burseraceae). *Evolution* 68: 1988-2004.

Fiori C. C. L., M. Santos and A. M. Randi. 2009. Aspects of gametophyte development of *Dicksonia sellowiana* Hook (Dicksoniaceae): an endangered tree fern indigenous to South and Central America. American Fern Society 207-216.

Hewitt, G. M. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. Nature 405:907-913.

Hewitt, G. M. 2004. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical transactions of the Royal Society Biological Sciences* 359:183-195.

Hooghiemstra, H. and Van der Hammen, T. 1998. Neogene and Quaternary development of the neotropical rain forest: The forest refugia hypothesis, and a literature overview. *Earth Science Reviews* 44(3-4): 147–183.

Hoorn, C., Guerrero, J., Sarmiento, G.A., Lorente, M.A. 1995. Andean tectonics as a cause for changing drainage patterns in Miocene northern South America. *Geology* 23: 237-240.

Ibars, A.M. and Estrelles, E. 2012. Recent developments in ex situ and in situ Conservation of ferns. *Fern Gazette* 19: (3)67-86.

Korall, P. and K. M. Pryer. 2014. Global biogeography of scaly tree ferns (Cyatheaceae): Evidence for Gondwanan vicariance and limited transoceanic dispersal. Journal of Biogeography 41:402–413.

Ledru, M. P., G. Ceccantini, S. E. M. Gouveia. 2006. Millenial scale climatic and vegetation changes in a northean Cerrado (Northeast, Brazil) since the last glacial maximum. *Quaternary Science Reviews* 25:1110-11126.

Mallmann, I. T., V. L. Silva, R. K. Porta, F. B. Oliveira and J. L. Schmitt. 2018. Spatial distribution analysis of *Dicksonia sellowiana* Hook. in Araucaria forest fragments with different sizes. Brazilian Journal of Biology. Ahead of Print.

Martins, E. M., R. W. Lamont, G. Martinelli, C. F. Liramedeiros, A. Quinet and A. Shapcott. 2015. Genetic diversity and population genetic structure in three threatened *Ocotea species* (Lauraceae) from Brazil's Atlantic Rainforest and implications for their conservation. *Conservation Genetics* 16: 1–14.

Moritz, C., J.L. Patton, C.J. Schneider and J.B. Smith. 2000.Diversification of rainforest faunas: an integrated molecular approach. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31:533-563.

Myers, N., R. A. Mittermeir, C. G. Mittermeir, G. A. Fonseca, e J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853-858.

Noben, S., M. Kessler, D. Quandt, M. Krug, A. Weigand, and M. Lehnert. 2017. Biogeography of the Gondwanan tree fern family Dicksoniaceae — A tale of vicariance, dispersal and extinction. Journal of Biogeography 41(2): 402–413.

Oliveira V. B., M. Zuchetto, F. J. Z. Merino and O. G. Miguel. 2013. Dicksonia sellowiana Hook Dicksoniaceae a fern characteristic of mixed ombrophilous forest: a review Visão Acadêmica 14:3.

Pimm, S. L., G. J. Russell, J. L. Gittleman, and T. M. Brooks. 1995. The future of biodiversity. *Science* 269: 347-350.

Pio Corrêa, M. 1931. *Dicionário das plantas úteis do Brasil*. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura 2:209-210.

Raghavan V. 2005. Development biology of fern gametophytes. Cambridge University Press.

Ribeiro, R.A., J. P. Lemos-Filho, A. C. S. Ramos and M. B. Lovato. 2011. Phylogeography of the endangered rosewood *Dalbergia nigra* (Fabaceae): insights into the evolutionary history and conservation of the Brazilian Atlantic Forest. Heredity 106: 46–57.

Ricklefs RE. 2010. Evolutionary diversification, coevolution between populations and their antagonists, and the filling of niche space. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 1265–1272.

Sanmartín I. and F. Ronquist. 2004. Southern hemisphere biogeography inferred by event-based models: Plant versus animal patterns. *Systematic Biology* 53:216-243.

Santos, J. 2011. Estrutura Populacional de *Dicksonia sellowiana* Hook. (Dicksoniaceae) no Brasil: subsídios para a conservação. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

Sodiro, A.L. 1893. Cryptogamae Vasculares Quitenses. Adiectis Speciebus. In Allis Provinciis. Ditionis Ecuadorensis. Hactenus Detectis Cryptogamae vasculares Quitenses 7(49): 79–86.

SOS MATA ATLÂNTICA/INPE. 2008. Atlas dos remanescentes florestais da Mata 285 Atlântica, período 2005–2008. Fundação SOS Mata Atlântica & INPE. São Paulo.

Tryon, R. M. 1970. Development and evolution of ferns floras of Oceanic Islands. *Biotropica* 2:76-84.

Tryon, R. M. 1972. Endemic areas and geographic speciation in Tropical American ferns. *Biotropica* 4:121-131.

Turchetto-Zolet, A. C., F. Salgueiro, C. Turchetto, F. Cruz, N.M. Veto, M.J.F. Barros, A.L.A. Segatto, L.B. Freitas, R. Margis. 2016. Phylogeography and ecological niche modelling in *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) suggest distinct vegetational responses to climate change between the southern and the northern Atlantic Forest. *The Botanical Journal of the Linnean Society* 182: 670-688.

Wiens, J. J. 2007. Global patterns of diversification and species richness in amphibians. *The American naturalist* 170: 86-106.

Wright S. 1978. *Evolution and the genetics of populations*. Chicago: University of Chicago. 580.