

FREDERIC MENDES HUGHES

**Biosistemática, filogeografia, estrutura
microespacial e dinâmica populacional do
complexo *Melocactus oreas* (Cactaceae) no Brasil**

Belo Horizonte, Minas Gerais

2014

FREDERIC MENDES HUGHES

**Biossistemática, filogeografia, estrutura
microespacial e dinâmica populacional do
complexo *Melocactus oreas* (Cactaceae) no Brasil**

Tese de Doutorado apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre.

Orientador: Dr. Eduardo Leite Borba (UFABC)

Co-orientadora: Dra. Claudia Maria Jacobi (UFMG)

Belo Horizonte, Minas Gerais
2014

Aos meus pais, ofereço

A curvatura do tempo

Olho ao redor, há pouco do lugar que eu sou
Contemplo o pôr do sol cada dia mais turvo
Não é o mesmo sol quando residia no ventre materno
De onde o vejo não há céu, nem mar, nem arvoredos
Estou envolto por coisas inertes, mensuráveis, inelutáveis
Aqui permaneço, longe do cais e perto dos sonhos
A brisa que me toca é menos suave e o ar mais denso
Permaneço, enquanto pensamentos me transportam ...
Estou despido, as coisas que medeiavam não me tomam, não me tornam
Do caminho percorrido, muitos trago comigo
Poucos deixei para trás [benditos sejam os sonhos]
Se quiser, posso voltar a todos e os encontrarei mais vivos
O esquecimento é proposital é sobrevivência
Aquele brisa densa, aquele sol turvo - fazem parte do caminho

O sol surge no horizonte, ainda está disforme e frio
Não é o mesmo sol quando residia no braço paterno
Eis duas fortalezas do ser humano ou do inumano mais crítico
O olhar complacente da mãe e o peso da mão áspera do pai sobre o ombro
No horizonte, se o encaro detidamente, os encontro e sei que estão aqui
Em cada célula, em cada átomo e assim sou pleno
De tudo restarão três coisas: aqueles olhos, aquela mão e o sol turvo
Eis o tempo, péssima intenção humana, e eu sigo sentindo
Liberto das coisas e mais perto daquele cais
Dentro do vento, meus olhos fecham e minha garganta seca
Penso no retorno novamente, as pessoas andam distantes [bendito seja o sonho]

Olho para trás, há vários caminhos possíveis e a escolha feita
Com o nó na garganta, o caminho a ser seguido - em frente
Ao longe - no horizonte, a abstrata linha: sem sabor, sem cheiro e sem sons
Encolhido no caminho, a tempestade e a noite agigantam-se
Mas, aqueles olhos ainda estão lá [o farol daquele cais]
E sinto aquela mão no meu ombro, mais áspera e firme pelo mérito da vida
Erigido pelo caminho, a poeira assentada na curvatura do tempo
Sigo-o – ao meu lado o amor, a um passo os meus sonhos
E no horizonte – aqueles olhos nos guiam pela noite escura
O sol surge no horizonte, estamos no cais, de onde vemos o céu, o mar e arvoredos
Para trás a tempestade – estamos rodeados por seres libertos, intangíveis
Aqui permaneço, envolto nos braços sob a luz daqueles olhos e dentro do nosso sonho

Belo Horizonte, 27 de fevereiro de 2013

(Aos meus pais)

Para a minha querida esposa Alice:
fonte inesgotável de amor e verdade.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Quando se vê quatro anos e seis meses se passaram, e parafraseando minha amiga Dulce, se fosse um ‘*Melocactus*’ demoraria mais tempo. Naturalmente, não somos herméticos ou mônadas, transitamos entre todos que minimamente permitem dividir átimos das nossas vidas. Nesse recorte de tempo, muito aprendi e com muitas pessoas, às quais nominalmente agradeço.

Em primeiro lugar quero agradecer aos meus orientadores, Eduardo e Claudia, por esta oportunidade, por possibilitarem as parcerias e por não precisar me preocupar com questões de financiamento, algo básico para poder fazer ciência. Especialmente agradeço pelo apoio contínuo. Certamente, sem a ajuda de ambos e as inúmeras horas que investiram avaliando e revisando cada um dos capítulos desta tese, a mesma não seria possível. Também sou grato por terem me ensinado a ser mais crítico com tudo o que leio e escrevo, o que sem dúvida me ajudará a ser um cientista melhor. Obrigado pelos ensinamentos e pelo privilégio.

Aos meus pais, Fernando e Vera, agradeço pelo eterno amor, amor ternura, amor dedicação, amor desvelo, amor cumplicidade... Também agradeço por sempre me estimularem a estudar e aprender mais, apesar da distância e do enfado que isso implica. Lembro-me quando estudava em casa, sob a luz de uma vela, a equação $ax = -b$; recorri ao meu pai, e me veio a surpresa – ao invés da resposta uma enciclopédia Larousse de Matemática aberta no assunto, e completou: “não perca tempo estudando o que você já sabe isso é burrice”. De fato! E aqui estou.

À Alice, amada esposa, pelo carinho e incentivo. Sem você estaria de jangada neste imenso mar. Finalmente, voltaremos para a lagoa das *tortugas*. Lá, a cada dia mais branco, sempre pentarei o seu cabelo.

Ao amigo e colaborador José Eugenio Côrtes Figueira. Obrigado pela tua infinita paciência de posse de um belo machado *Viking* de dois gumes – afiadíssimo. Você me ajudou sobremaneira a entender a ecologia de populações e muitas outras ecologias. Agradeço pelos ensinamentos e entusiasmo, e por acreditar no projeto de um jovem aprendiz. Agradeço também pelas dores de cabeça, afinal, acompanhar o seu cérebro é um desafio engrandecedor. Estarei te aguardando às 15 hs para tomarmos mais um café, para rirmos bastante. Indiretamente agradeço a Malu, sua companheira, por emprestar o machado.

Aos professores e parceiros em sala de aula pelo saber compartilhado. À minha digníssima tutora Maria Auxiliadora Drumond pelos ensinamentos: quando não se pode dicotomizar as coisas é imperativo transitar. Ao amigo John Sydenstricker-Neto pela sua energia e alteridade: o diálogo é possível – sempre.

Aos que movimentam o Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre – UFMG. Aos professores pelo belo exercício de ensinar e aprender. Nominalmente agradeço a Frederico Teixeira e Cristiane pela solicitude e prontidão.

Aos professores José Pires de Lemos e Geraldo Wilson Fernandez pelas sugestões no projeto inicial de doutorado apresentado ao PPG-ECMVS.

Aos professores Frederico Siqueira Neves, José Eugenio Côrtes Figueira e Maria Auxiliadora Drumond pelas valiosas sugestões na banca de qualificação.

Ao amigo João Aguiar Nogueira Batista pela solicitude e apoio constante em todas as fases dos estudos moleculares.

À Nigel Paul Taylor e Marlon Câmara Machado pela confirmação taxonômica das espécies do complexo *Melocactus oreas*.

Ao ilustre Antônio Massensini Jr pela atenção, cooperação e entusiasmo, além das andanças e desafios pelo grande sertão – cada fim de dia era festejado com algumas *sub-zero*. Meus sinceros agradecimentos com o desejo de nossa longa amizade aqui e alhures.

Aos colegas de laboratório: Aline Ramalho, Ana Paula Vimieiro Martins, Ariane Raquel Barbosa, Bárbara Leal, Bruna Ladeira Lau, Cecília Fiorini e Karina Proite por me iniciarem na Biologia Molecular – mesmo sob ameaça de cocão Ana, agradeço.

Ao grupo de estudos sobre Modelos Preditivos de Distribuição de Espécies e colegas de disciplinas correlatas. Nominalmente agradeço a Luciana Kamino, Ubirajara, Marina Dutra, Guilherme (Doug), Ivan Fiorini e Daniella Rezende, pelos debates e avanços conceituais.

Aos membros titulares da banca de tese, Evandro Marsola de Moraes, José Eugenio Côrtes Figueira, Viviane Silva Pereira e Yasmine Antonini, e suplentes Fernando Augusto de Oliveira e Silveira e Luciana H. Yoshino Kamino, pela atenção, disponibilidade e ensinamentos.

A Bruno Falcão por diminuir meu distanciamento com o Brahms.

Aos moradores locais que permitiram que eu coletasse em suas propriedades: Sr. Zé e dona Ivani (Itaobim-MG), dona Maria (Carbonita-MG), dona Anita (Porteirinha-MG), Sr. Alcides (Rio do Antônio-BA), Sr. Pedro (Cercado-BA), Sr. João Martins (Nova Itarana-BA) e Sr. Luiz (Caetés-PE).

Aos motoristas Messias e Luis pela companhia prazerosa nas expedições no grande sertão, percorrendo 10.000 km. A Deá (moto-boy) pela pontualidade e cuidado nos 3.000 km rodados sem acidentes.

À CAPES-REUNI, pela bolsa de doutorado e por oportunizar experiência docente.

Apoio institucional



Apoio financeiro



SUMARIO

▪ Introdução geral	01
Antecedentes	02
Estrutura geral da tese	14
▪ Capítulo 1	16
Fate of cohorts in <i>Melocactus</i> (Cactaceae) species is affected by rainfall uncertainty and microrelief structures	
▪ Capítulo 2	42
Processos demográficos de cactos rupícolas no leste do Brasil: contraste entre população central e marginal, e ameaças antrópicas	
▪ Capítulo 3	71
Espécies do complexo <i>Melocactus oreas</i> (Cactaceae), endêmicas do leste brasileiro, divergem ambientalmente? Inferências para modelos especiativos	
▪ Capítulo 4	95
Congruência taxonômica em populações do complexo <i>Melocactus oreas</i> (Cactaceae) e tendências geo-topográficas e climáticas na distribuição da variabilidade morfológica	
▪ Capítulo 5	138
A influência de componentes do nicho climático e topográficos na filogeografia: implicações taxonômicas para o complexo <i>Melocactus oreas</i> (Cactaceae)	
▪ Considerações finais	176
▪ Referências	178

INTRODUÇÃO GERAL



ANTECEDENTES

Cactaceae é uma família do Novo Mundo dotada de elevada diversidade morfológica (p.e., arborescentes, arbustivas, trepadeiras, epífitas, geófitos) (Mauseth 2006), e que se originou há aproximadamente 35 milhões de anos durante o Terciário médio na região Andina da Argentina, Bolívia e Peru (Edwards et al. 2005; Ritz et al. 2007; Arakaki et al. 2011). As cactáceas são representadas atualmente por três grandes centros de diversidade e endemismos: o primeiro compreende o México e sudoeste dos Estados Unidos, seguido pela porção central dos Andes na América do Sul e região leste do Brasil (Taylor & Zappi 2004; Hunt et al. 2006). Embora a maioria das espécies habitem locais semi-áridos, os cactos alcançam áreas áridas de precipitação não mensurável, como no deserto do Atacama onde sobrevivem como geófitos, até florestas tropicais com 2.000 mm de precipitação anual onde esses se adaptaram a microhabitats epífitos ou ambientes de dunas relativamente secos (Barthlott & Hunt 1993; Taylor 1997; Rebman & Pinkava 2004).

Mesmo com a notável diversidade morfológica, Cactaceae apresenta baixa variabilidade plastidial, o que tem sido associado com eventos recentes de diversificação no Mioceno tardio (10 – 5Ma AP) e Plioceno (5 – 2 Ma AP) (Arakaki et al. 2011). Estas épocas compreendem o desenvolvimento e expansão dos principais núcleos áridos reconhecidos atualmente no Neotrópico (p.e., deserto de Sonora, Chaco, Semi-árido no leste do Brasil), com forte influência do soerguimento dos Andes para formação dos núcleos áridos da América do Sul. Estas épocas são marcadas pelo declínio acentuado do CO₂ atmosférico (Tripathi et al. 2009). Este declínio pode ter proporcionado uma forte vantagem competitiva para espécies com sistema fotossintético tipo CAM (metabolismo ácido das crassuláceas) e rápida diversificação de linhagens nos novos ambientes em formação. Isto pode ser observado

na forte convergência entre a diversificação destas linhagens e o surgimento de plantas suculentas e com metabolismo CAM (Lüttge 2004; Arakaki et al. 2011).

As espécies de cactos apresentam atributos fisiológicos como a especialização fotossintética tipo CAM, e morfológicos como a suculência da parte vegetativa ou cladódio (Lüttge 2004). Esses atributos conferiram potencial adaptativo para a ocupação de ambientes preferencialmente xéricos (Arakaki et al. 2011). O primeiro possibilitou maior eficiência sobre o uso da água armazenada e o segundo o estoque de água ‘necessária’ para sobreviver aos períodos de seca (Lüttge 2004; Mauseth 2006). Com a relativa homogeneidade fisiológica observada entre espécies de cactos (Lüttge 2004), variações quantitativas na parte vegetativa e nas estruturas reprodutivas podem ter favorecido a diversificação dos cactos em ambientes que divergiam em seus padrões de chuva e temperatura (Mauseth 2000; Lüttge 2004; Egli & Nyffeler 2009). Essa variabilidade morfológica, particularmente na combinação de formas, tamanho e números de costela (estriamento do caule fotossintetizante), pode ter sido importante nas oportunidades ecológicas experimentadas pelas linhagens ancestrais (Mauseth 2000; Lüttge 2004; Arakaki et al. 2011), com a expansão dos núcleos áridos no leste do Brasil sobre uma paisagem com elevada complexidade topográfica, edáfica e climática (Clapperton 1993; Velloso et al. 2002; Pennington et al. 2009).

Em escala local, a distribuição dos cactos é afetada por múltiplos fatores ambientais. Dentre eles podemos comunicar, os aspectos relacionados às condições microclimáticas (Whitford 2002), condições de solo (Bashan et al. 2000), polinização e dispersão restrita (Fonseca et al. 2012; Gomes et al. 2013) e associações positivas com plantas perenes (*nurse plants*) (Flores & Jurado 2004). Estes fatores relacionados podem justificar, pelo menos em parte, os padrões de riqueza e endemismos, considerando-os como condicionantes potenciais em algum momento da história evolutiva do grupo. O gênero *Melocactus* encontra-se distribuído desde as restingas litorâneas do estado do Rio de Janeiro, passando pelos estados

do Nordeste do Brasil e chegando até o México e Ilhas do Caribe (Taylor 1991). Essa ampla distribuição é marcada por endemismos oriundos provavelmente de áreas vicariantes (Taylor & Zappi 2004). *Melocactus* é um gênero que inclui cerca de 39 espécies de cactos globosos e espinhosos comuns a zonas áridas e semi-áridas, tropicais e subtropicais das Américas (Hunt et al. 2006). Ritz et al. (2007), sugerem que o centro de origem do clado a que pertence *Melocactus* ocorreu nos Andes e que posteriormente a diversificação ocorreu no estado da Bahia no Brasil, onde existem 16 espécies.

Sistema de classificação e fontes de variação

A história taxonômica dos táxons que compõem o gênero *Melocactus* é composta por diversos nomes específicos e subespecíficos, atualmente sinonimizados, muito em função da variação morfológica observada em populações naturais (Taylor & Zappi 2004; Hunt et al. 2006). Isto pode ser dimensionado quando observamos 44% das 16 espécies do gênero *Melocactus*, que ocorrem no leste do Brasil, organizadas em complexos de espécies, que frequentemente são divididas em subespécies, variedades e formas. Taylor (1991) delimitou as espécies do gênero *Melocactus* utilizando como base as características vegetativas e de sementes, e localização geográfica. Esses padrões de variação fenotípica no espaço geográfico foram utilizados para determinar os limites de espécies, pois proporcionavam uma visão mais coerente sobre os possíveis processos ecológicos e mecanismos evolutivos envolvidos (de Queiroz 2007; Bennett et al. 2008). Neste contexto, as relações entre a geografia e o ambiente, associadas com as variações na forma e tamanho de caracteres, forneceram evidências indiretas de que a diversificação tenha ocorrido em alopatria, o que configurou a hipótese central da diversificação do gênero *Melocactus* (Taylor 1991).

Uma desvantagem da classificação baseada em morfologia, especialmente em Cactaceae, deve-se à plasticidade fenotípica e natureza contínua dos caracteres empregados

(Machado et al. 2005; Helsen et al. 2009), ocorrência de hibridização natural entre espécies simpátricas (Lambert et al. 2006b) e poliploidização com produção de variantes morfológicas (Assis et al. 2003). Consequentemente, as decisões taxonômicas envolvendo *Melocactus* foram associadas com recortes altitudinais e/ou faixas latitudinais, facilmente acomodadas na hipótese alopátrica. Neste caso, um risco emerge, justamente quando o reconhecimento de grupos taxonômicos formais pode indicar táxons discretos onde não existem linhagens evolutivas independentes. Por exemplo, o padrão insular de distribuição (i.e., afloramentos rochosos descontínuos inseridos numa matriz de floresta tropical seca) dos táxons constituintes do complexo *Melocactus oreas* (= *M. ernestii* subsp. *ernestii* e subsp. *longicarpus*, *M. oreas* subsp. *oreas* e subsp. *cremnophilus*, *M. bahiensis* subsp. *bahiensis* e subsp. *amethystinus*, e *M. conoideus*), associado com a variabilidade morfológica populacional nestes afloramentos, promoveu uma profusão de espécies que foram posteriormente sinonimizadas (Taylor 1991).

O padrão insular é tido como um dos principais fatores na diferenciação das populações de *Melocactus*, o que tem sido confirmado com estudos de genética de populações desenvolvidos com outras espécies de cactos associadas a afloramentos rochosos (Lambert et al. 2006b; Bonatelli et al. 2014; Pinheiro et al. 2014). Efeito similar foi observado em *Opuntia* nas Ilhas Galápagos (Halsen et al. 2009). No caso das espécies de *Opuntia*, a elevada diversidade morfológica observada entre as ilhas foi relacionada com uma baixa variabilidade genética plastidial (Halsen et al. 2009), o que pode ser entendido como uma radiação adaptativa recente. Este isolamento populacional associado com populações pequenas e efeitos estocásticos pode determinar a mudança na composição genética destas populações, seja reduzindo a variabilidade intrapopulacional e/ou fixando alelos elevando a diferença genética entre populações (Bridle & Vines 2007).

Estudos sobre sistema reprodutivo com espécies de *Melocactus* têm demonstrado que a condição autocompatível é predominante e que os atributos florais sugerem a ornitofilia como principal síndrome (p.e., Nassar & Ramírez 2004; Colaço et al. 2006; Gomes et al. 2013). A maioria das espécies de beija-flores visitantes é territorialista (i.e., demarcam territórios de alimentação), o que limita efetivamente o fluxo de pólen. Os dispersores de sementes também apresentam comportamento territorialista. Este comportamento tem sido considerado como causador de subestruturação morfológica e ou genética em populações de *Melocactus* (Lambert et al. 2006a; b; Nassar et al. 2007). Além disso, o padrão espacial de distribuição destas espécies de plantas e a heterogeneidade ambiental a que estão submetidas, se somam como fatores estruturadores das populações de *Melocactus*.

Condicionantes ambientais e dinâmica populacional

A principal característica dos ambientes áridos e semi-áridos é a imprevisibilidade das chuvas, e que normalmente ocorre em pulsos seguidos por secas prolongadas (Whitford 2002). Neste caso, a qualidade ambiental pode variar elevando sobremaneira as taxas de mortalidade nas fases iniciais do ciclo de vida (Godínez-Álvarez et al. 2003). Este é um padrão comum em espécies de ambientes com restrição hídrica que são em sua grande maioria estrategistas *r* e de vida longa.

Os baixos níveis de precipitação (< 600 mm de chuva anual) e sua distribuição em pulsos esporádicos condicionam a dinâmica das comunidades vegetais desses ecossistemas áridos e semi-áridos (Maestre et al. 2012). A dinâmica destas comunidades também é regulada por eventos de facilitação (Calaway 2007), como o efeito positivo de algumas plantas sobre outras mediante a melhoria das condições ambientais (p.e., redução da temperatura, maior fertilidade do solo, defesa contra herbívoros). Entretanto, os avanços conceituais alcançados a partir da hipótese de gradiente por estresse, excessivamente simples,

proporcionaram uma visão mais abrangente desses efeitos em comunidades xerófilas. Neste caso, o equilíbrio entre facilitação/neutralidade/competição é um determinante fundamental da dinâmica dessas comunidades e que pode oscilar no espaço-tempo (Callaway 2007; Brooker et al. 2008; Maestre et al. 2009). Isto implica que mudanças climáticas globais associadas com mudanças substantivas nas quantidades anuais de chuva e mudanças temporais (i.e., chuvas menos abundantes durante os pulsos, e chuvas torrenciais mais frequentes; IPCC 2007; Marengo et al. 2012), podem desempenhar efeitos profundos sobre a vegetação dos ecossistemas áridos, com perda de espécies e diminuição da funcionalidade e serviços ecológicos (Maestre et al. 2012).

Este efeito de facilitação tem sido indicado para muitas espécies de cactos, onde plantas-babás desenvolvem locais e zonas de depleção de recurso que, sob certas condições, não afetam fortemente os recursos disponíveis para vizinhos, e a estrutura espacial observada nessas comunidades sugere facilitação de nicho (Van der Maarel et al. 1995). As interações positivas podem promover a coexistência e aumentar a diversidade, principalmente em ambientes rochosos, que são controladas edaficamente (Porembski & Barthlott 2000). No caso específico dos *Melocactus* rupícolas, estruturas do microhabitats desempenham papel facilitador, além das espécies babás (ou *nurse plants*). Este parece ser um evento recorrente em espécies de cactos que colonizam afloramentos rochosos (Munguía-Rosa & Sosas 2008; Peters et al. 2008) e direcionador da dinâmica espaço-temporal destas populações (Hughes et al. 2011).

Adicionalmente, essas espécies também respondem às mudanças das quantidades de chuvas, principalmente no seu desempenho individual (Godínez-Álvarez et al. 2003). A partir dos estudos envolvendo comportamento fenológico com espécies de *Melocactus* (p.e., Locatelli & Machado 1999; Fonseca et al. 2008; Gomes et al. 2013) observa-se um padrão contínuo de produção de flores e frutos, mas com pulsos de produção associados com pulsos

de precipitação. Entretanto, essa associação nem sempre é observada devido à suculência destas plantas, que promove um atraso na resposta da produtividade frente às irregularidade das chuvas. Essa heterogeneidade temporal na produção é comum tanto em espécies lenhosas quanto herbáceas em ambientes semi-áridos como a Caatinga. No geral, a precipitação é considerada o fator desencadeador da produção de folhas e flores enquanto que a estiagem impulsiona as fenofases de frutificação e de senescência (Griz & Machado 2001).

As espécies de *Melocactus* são popularmente conhecidas como coroa-de-frade. Espécies de *Melocactus* apresentam um cefálio terminal como característica marcante do gênero. Para algumas espécies o cefálio pode determinar o fim do crescimento em altura das estruturas vegetativas, desta forma este tipo de cefálio é classificado como terminal (Taylor 1991). Diferentemente das espécies de cactos colunares (como *Ferocactus acanthodes* e *Carnegiea gigantea*), onde o crescimento em altura vegetativa é determinante da idade da planta (Drezner 2003), *Melocactus* apresenta a altura do cefálio como indicativo da idade da planta na fase adulta (Taylor 1991; Hughes et al. 2011).

As espécies de cactos são de vida longa e, em alguns casos, necessitam de pelo menos 100 anos para alcançar a fase adulta, como é o caso da espécie *Neobuxbaumia macrocephala* (Esparza-Olguín et al. 2002). A maioria das espécies de cactos apresentam crescimento lento e são longevas, indicando que a persistência das populações deve ocorrer pela permanência de adultos, com a renovação populacional associada com pulsos benéficos de precipitação. Por exemplo, das 80 matrizes de transições que representam 22 espécies de cactos estudadas até o momento (Fig. 1), 74 indicaram maior elasticidade para sobrevivência de adultos (p.e., Jiménez-Sierra et al. 2007; Martínez et al. 2010; Zepeda-Martínez et al. 2013). Este resultado é consistente com o de Godínez-Álvarez et al. (2003), e concordante com o que se observa em outros ecossistemas com elevada variação climática interanual. Nestes casos, a sobrevivência

de adultos cujas longevidades são elevadas, permitem a persistência e crescimento populacional decorrentes de episódios de recrutamento eventuais (Grime 2001).

As diferentes espécies de *Melocactus* são coletadas e comercializadas de forma indistinta por várias comunidades, sendo comumente observada a sua venda em margens de rodovias e feiras, além de serem exportadas para outros centros. Apesar de espécies de outros gêneros de Cactaceae serem também comercializadas, estas sofrem uma pressão menor por serem coletadas partes dos indivíduos (p.e., cactos colunares), enquanto os indivíduos de *Melocactus* são sempre removidos inteiros devido à impossibilidade de propagação por apenas parte do caule. Além disso, o principal alvo dos comerciantes são cactos adultos. A coleta e comércio normalmente de forma indistinta das espécies faz com que algumas espécies de ampla distribuição estejam menos vulneráveis por possuírem um grande número de populações com um elevado número de indivíduos. Porém, várias espécies possuem uma distribuição bastante restrita, ocupando uma área muito reduzida (eventualmente conhecidos em um único afloramento rochoso), com um número também muito baixo de indivíduos adultos, podendo ser extintas através de uma única coleta (Taylor 2000). Esta tendência de declínio populacional foi observada em 60% das populações estudadas, com valores de λ inferiores a 1 (Fig. 1C).

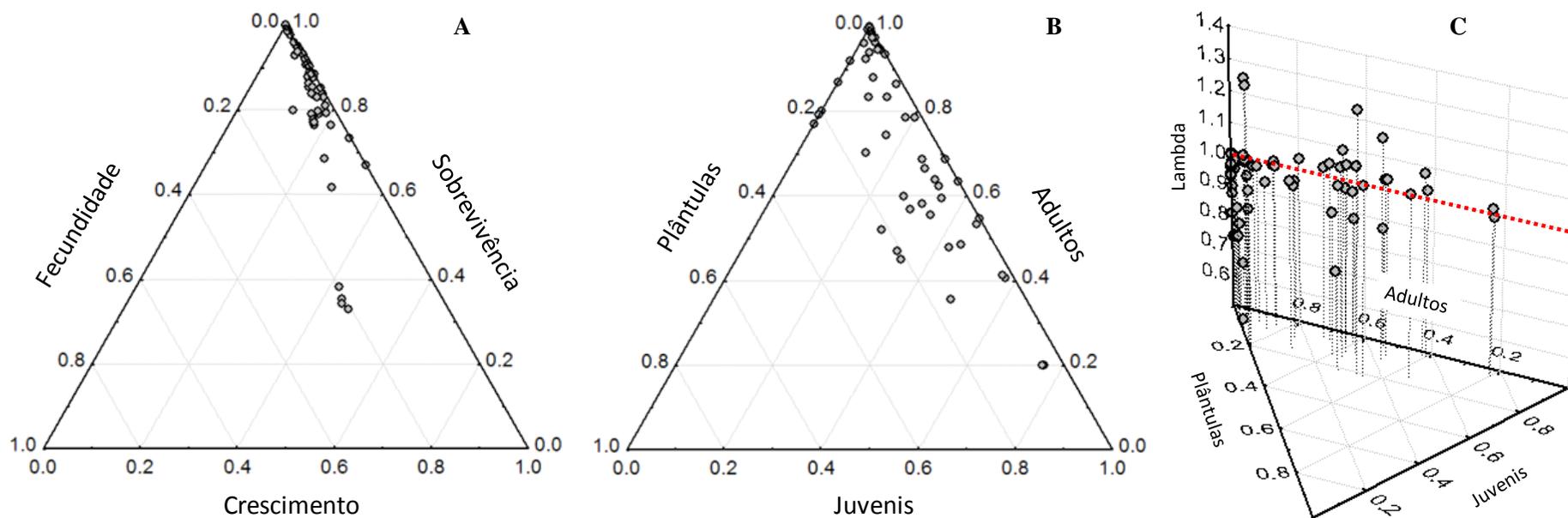


Figura 1 Ordenação triangular dos valores das elasticidades para 80 matrizes de transição que contemplam 22 espécies de cactos e três formas de vida (cactos globosos, colunares e arbustivos). Os três eixos do gráfico correspondem a: (A) fecundidade, crescimento e sobrevivência; (B) plântulas, juvenis e adultos; (C) representa os diferentes ciclos de vida e os valores das taxas finitas de crescimento populacional (λ). Linha vermelha indica 1,0 ou taxa de crescimento populacional estável.

Morfologia, filogeografia e modelos de paleodistribuição

Variações nos organismos associadas às condições ambientais e isolamento geográfico têm atraído a atenção de biólogos e ecólogos desde Darwin levando então a ser entendidos como causados por processos evolutivos (Sexton et al. 2013). A plasticidade fenotípica adaptativa pode ser causada por seleção natural divergente resultante de pressões seletivas impostas pelo padrão de variação geográfica dos fatores ecológicos, ou podem ser o resultado da deriva genética ou efeito fundador (Schluter 2009; Kozak & Wiens 2010). Estudar a variação geográfica dentro de espécies, onde divergências evolutivas podem estar em progresso, provê uma excelente oportunidade para observar o processo de especiação em ação.

De fato, processos ecológicos restritos como a polinização e dispersão promovida por organismos territorialistas, acasalamento preferencial, padrão de distribuição espacial e recrutamento de progênies agregado, apresentam-se como mecanismos estruturadores em populações naturais de plantas, que probabilisticamente conduzem a eventos de especiação ou geradores de variabilidade morfológica dentro de populações de planta (Loveless & Hamrick 1984). A utilização de análise estatística multivariada sobre dados de variação morfológica tem prestado valiosa contribuição na discriminação de plantas de modo intra e interpopulacional, e determinado quais condicionantes ambientais são os prováveis direcionadores da variação (Lambert et al. 2006a; b). Além disso, o uso dessas abordagens multivariadas tem auxiliado no melhor entendimento de complexos de espécies (Machado et al. 2005), e proporcionam enquadramentos taxonômicos mais congruentes quando integradas com abordagens filogeográficas e de paleodistribuição.

Filogeografia é um termo criado por Avise (1987) para uma disciplina relativamente nova, naquela época, focada no estudo dos princípios e processos que governam as distribuições geográficas de linhagens genealógicas, especialmente dentro e entre espécies

proximamente relacionadas (Avice 2000). A influência destes processos pode ser deduzida em função dos condicionantes ambientais historicamente cambiantes atuarem nos eventos de expansão/retração/fragmentação da distribuição geográfica de espécies (Hewit 2002). Frequentemente, esses eventos deixam assinaturas genéticas características (p.e., alelos exclusivos em refúgios climáticos, redução da diversidade genética em populações marginais ou em nichos recém colonizados), e podem ser acompanhadas por variação fenotípica, principalmente na forma e tamanho de caracteres quando associadas com gradientes abióticos seletivos (Bridle & Vines 2007).

Em ambientes áridos e semi-áridos, os controles climáticos e biogeoquímicos representam um dos principais fatores reguladores da funcionalidade e dinâmica desses ecossistemas, uma vez que a disponibilidade hídrica é o principal direcionador da atividade biológica (Maestre et al. 2012; Delgado-Baquerizo et al. 2013). Nesse contexto, as mudanças nos regimes de precipitação durante as oscilações climáticas do passado podem ter influenciado de maneira notável a distribuição das espécies de plantas no leste do Brasil (revisados em Werneck et al. 2011). Por exemplo, as florestas tropicais secas e savanas podem ter sofrido fragmentação da distribuição das espécies tolerantes a seca no Último Interglacial (LIG, ~120.000 - 140.000 AP), caracterizados por climas mais quentes e úmidos, com posterior expansão durante Último Máximo Glacial (LGM, 21.000 anos antes do presente AP) (Clapperton 1993; Behling 2003).

Nesse ponto, a integração de genealogias e modelos de paleodistribuição, devido a complementaridade entre as análises, tem proporcionado um aumento no realismo dos modelos históricos, melhorando as inferências filogeográficas sobre a importância relativa dos eventos climáticos para a formação da estrutura genética populacional (Carstens & Richards 2007; Werneck et al. 2012; Cosacov et al. 2013). Os estudos filogeográficos ainda são

escassos em ambientes áridos (revisado em Sérscic et al. 2011; Turchetto-Zolet et al. 2013), mas são concordantes sob a influência das oscilações climáticas históricas sobre a distribuição e estrutura genética em espécies vegetais desses ambientes. A estrutura genética de algumas espécies de cactos e orquídeas associadas a afloramentos rochosos nos biomas Caatinga e Cerrado evidencia tanto o efeito da condição insular quanto das oscilações climáticas pleistocênicas na estruturação genética (Bonatelli et al. 2014; Pinheiro et al. 2014). Com base nessa estruturação e nas reconstruções paleoclimáticas, esses afloramentos rochosos em áreas de chapadas e serras foram considerados como áreas de refúgios múltiplos durante os interglaciais no leste do Brasil. Nesse contexto, essas manchas de comunidades xerófilas, isoladas podem justificar o elevado número de microendemismos associados a estas áreas de chapadas.

Por fim, as análises filogeográficas integradas a modelos de paleodistribuição e variação morfológica podem auxiliar a compreender como o processo evolutivo determinou a formação dos táxons do complexo *Melocactus oreas*, ou se o complexo corresponde de fato a uma única espécie com grande variação morfológica e ampla distribuição, ou se é constituído por diversos táxons microendêmicos.

ESTRUTURA GERAL DA TESE

O estudo das populações constituintes do complexo *Melocactus oreas* em um contexto de estruturação espacial e microhabitat, dinâmica populacional, modelagem de nicho e filogeográfico têm como objetivo responder questões em nível taxonômico e ecológico. A estruturação espacial e dinâmica populacional (Capítulos 1 e 2) possibilitam o entendimento do comportamento demográfico e das fases mais sensíveis do ciclo de vida, bem como o efeito do extrativismo sobre a taxa intrínseca de crescimento populacional (Caswell 2001). A modelagem de nicho climático atual (Capítulo 3) permite integrar as informações geográfica, ambiental e ecológica, e testar se espécies ou linhagens evolutivas estão associadas com conservadorismo ou divergência de nicho climático (McCormack et al. 2010). A avaliação da variabilidade morfológica (Capítulo 4) que compõe o complexo possibilita uma excelente oportunidade para examinar como essa variabilidade se distribui nos afloramentos e a contribuição de fatores altitudinais e latitudinais em um cenário biogeográfico (Taylor & Zappi 2004). A abordagem filogeográfica associada com reconstruções paleoclimáticas (Capítulo 5) permite avaliar informações sobre a história evolutiva das espécies, tais como a extensão de eventos de expansão e fragmentação das populações, e se correspondem às reconstruções paleoclimáticas. Empregando um marcador pouco variável de herança materna (cpDNA), pode-se estabelecer as relações históricas interpopulacionais, verificar a existência de barreiras históricas à dispersão de sementes entre populações conspecíficas e existência de distintas linhagens evolutivas significativas (Avice 2000).

Em síntese, a associação das informações da variabilidade haplotípica e dos processos evolutivos e ecológicos aos padrões morfológicos objetiva avaliar se o complexo *Melocactus oreas* corresponde de fato a uma única espécie com grande variação morfológica e ampla

distribuição, ou se é constituído por diversos táxons e, neste último caso, quais os limites e o *status* taxonômico destes. Adicionalmente, o trabalho aqui apresentado busca contribuir não somente para o entendimento da ecologia e evolução do complexo, como também para um modelo metodológico de estudos taxonômicos, biogeográficos e evolutivos de outras espécies de *Melocactus* que apresentem padrões complexos de variação morfológica e que ocorrem em afloramentos rochosos na Caatinga e em campos rupestres.

1

Fate of cohorts in *Melocactus* (Cactaceae) species is affected by rainfall uncertainty and microrelief structures

Fate of cohorts in *Melocactus* (Cactaceae) species is affected by rainfall uncertainty and microrelief structures

Frederic Mendes Hughes · Claudia Maria Jacobi

Departamento de Biologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais 31270-901,
Brazil

e-mail: fredericmhughes@gmail.com

Eduardo Leite Borba

Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Santo André, São
Paulo 09210-170, Brazil

Abstract Associations between plants and substrate in drylands enhance the ability of nutrient pools buildup and seedling establishment. However, this relationship has not been extensively demonstrated in populations of lithophytic plants. We report the effects of microrelief and neighboring plants on the population structure of *Melocactus* species in the semiarid region of northeastern Brazil. The size classes of five populations and the seedling fate in two populations were examined through point pattern analysis. Association patterns between size classes were positive between seedlings and adults in all the populations. Cohorts were positively related to rainfall (> 60%). Recruitment events were microhabitat-dependent and showed high mortality levels (> 70%). The spatio-temporal decoupling between seedling fate and adults may favor population dynamics changes under rainfall uncertainty. Based on our analyses, we suggest that the relationship among size classes, microhabitat and rainfall in lithophytic populations of *Melocactus* is crucial to buffer negative effects of environmental severity in seedling recruitment and survival.

Keywords Globose cacti · Microhabitats · Neighborhood effect · Point pattern analysis · Seedling survival

Introduction

Species with facilitative function (nurse plants) influence population dynamics and species coexistence in plant communities, particularly in water-stressed ecosystems, reducing severe environmental effects during the recruitment phase (Bertness and Callaway 1994; Callaway and Walker 1997; Flores and Jurado 2003; Liancourt et al. 2005; Michalet et al. 2014). The dynamic balance between facilitation by nurse plants and negative interactions (e.g., competition, herbivory, allelopathy) oscillates according to changes in local abiotic conditions, notably in cases of extreme environmental stress, where positive interactions diminish and negative interactions increase (Michalet 2006; Maestre et al. 2009).

In plant communities in arid and semi-arid ecosystems (hereafter called drylands), another type of nursing association has been suggested, between plants and microrelief elements (e.g., stones and crevices). These structures favor the retention of humidity and organic matter, and reduce temperature and evaporation, creating less stressing conditions than on the bare soil, therefore acting as facilitators (Reyes-Olivas et al. 2002; Martorell and Patiño 2006; Munguía-Rosas and Sosa 2008). Such nurse objects promote seedling recruitment under the stress imposed by direct solar radiation, and lack of rain and soil. For example, the establishment of globose cactus species (e.g., *Mammillaria*, *Melocactus*, and *Coryphanta*) is enhanced when associated with microrelief elements on Neotropical drylands in Mexico (Peters et al. 2008; Martorell et al. 2012), the Venezuelan Andes (Larrea-Alcázar et al. 2008), and the semi-arid region of Brazil (Hughes et al. 2011).

Cacti presenting different growth forms or architectures may differ in nurse objects requirements: the globose cactus *Echinopsis bridgesii* is less dependent on the presence of nurse plants than the columnar cacti *Corryocactus melanotrichus*, *Opuntia* sp., and *Austrocylindropuntia shaferi* (López and Valdivia 2007). Specific requirements also depend

on the stage of plant development. This was observed in the columnar species *Pilosocereus leucocephalus*, which emerges in the shade provided by shrubs or microrelief structures, but higher survival rates were associated only with nurse plants (Munguía-Rosas and Sosa 2008).

Most of the studies on facilitation and negative interactions were carried out in drylands (Flores and Jurado 2003; Maestre et al. 2009), and have not been widely demonstrated in populations of lithophytic plant communities (Hughes et al. 2011). Spatio-temporal analyses can provide an integrative approach that generates hypotheses on the mechanisms controlling the balance between facilitation and competition (Pugnaire et al. 2011). The association between size classes or species can indicate positive interactions, affinity for the same microhabitat, and the effects of directed dispersal by territorial lizards (Santamaría et al. 2007), while regular/uniform distributions could result from competition for limited resources such as water and adequate microsites (Pugnaire et al. 2011; Muhamed et al. 2013). The erratic nature of rainfall in drylands is an important selection feature regulating establishment events, while affinity for the same microhabitat determines the degrees of association between size classes (Godínez-Álvarez et al. 2003). Hughes et al. (2011) stated a negative spatio-temporal association between seedling survival and adults of *Melocactus ernestii* subsp. *ernestii*, with recruitment events regulated by precipitation and microrelief structures.

In this study, we discuss results from an observational study focusing on the population structure and microhabitats of several lithophilic *Melocactus* subspecies. We evaluated the association between size classes and the effects of neighbors on seedling survival during a two-year period in *Melocactus* species. More specifically, we tested the following hypotheses: (1) Intraspecific spatial association patterns (e.g., seedlings vs. adult plants) are similar for rupicolous taxa of *Melocactus*. In this case, we expected to find a

consistency in such intraspecific associations because these species share the same dispersers (Gomes et al. 2013), and occupy similar microsites (Taylor and Zappi 2004; Hughes et al. 2011). (2) The spatio-temporal dynamics of seedling mortality vary with change in environmental conditions (e.g., rainfall). In this case, we expected that adult plants may exhibit a positive effect by reducing the intensity of abiotic effects on mortality events in the early stages of development (Munguía-Rosas and Sosa 2008), and particularly in years with more xeric conditions.

Materials and Methods

Study system

The Neotropical genus *Melocactus* (Link and Otto) has its main center of diversity in the dry seasonal forests of northeastern Brazil (Taylor and Zappi 2004). Its species are perennial, non-clonal, globose, and the adult phase is characterized by the *cephalium*, a reproductive structure. Flowering and fruiting are regulated by rainfall (Taylor and Zappi 2004; Hughes et al. 2011). Seed dispersal is performed by lizards, which consume the fruits, and less frequently by ants, birds or by autochory (e.g., Fonseca et al. 2012; Gomes et al. 2013). In this study we evaluated the association between size classes in five populations of two species (three taxa: *Melocactus ernestii* subsp. *ernestii* (Vaupel), three populations (Me-NI, Me-IT and Me-MC); *M. ernestii* subsp. *longicarpus* ((Buining & Brederoo) N. P. Taylor), one population (MI-FS); and *M. bahiensis* subsp. *amethystinus* ((Buining & Brederoo) N. P. Taylor), one population (Mb-IT)) restricted to rock outcrops in northeastern Brazil (Table 1, Fig. S1, Fig. S2), and compared our results with those obtained by Hughes et al. (2011). The study sites (Fig. S1) have mean annual precipitation levels varying between 662 and 1114 mm, and mean annual temperatures of 20.6 to 24.1 °C, according to the Worldclim database

(~1 Km resolution) (Hijmans et al. 2005). Mean annual rainfall in populations Me-IT and Mb-IT during the study period was 832 mm (2011) and 595 mm (2012) (Instituto Nacional de Meteorología – INMET, accessed on January 15, 2013).

Microhabitat types and seedling fate

In the Me-IT and Mb-IT populations each emerging seedling of *Melocactus* was mapped, and its growth, survival and mortality was monitored every two months between January 2011 and December 2012. The proximity of each seedling with relation to three basic microhabitat types was also recorded (Fig. S2): i) objects – recruited in fissures and small areas of accumulated soil among the rocks; ii) adults – recruited in substrate island of the adults and juveniles; and iii) gaps – recruited in bare ground or pebbles. Facilitation by other perennial plants in the plots (e.g. *Cnidocolus* sp. - Euphorbiaceae, *Pilosocereus magnificus* and *Tacinga inamoena* - Cactaceae, and aggregations of *Orthophytum glabrum* - Bromeliaceae) was disregarded, as these were infrequent and always provided less than 5% cover.

We built a contingency table to calculate observed frequencies of alive and dead seedlings and their association with each microhabitat type or predictors (i.e., objects, adults and gaps). Deviations from expected frequencies were explored with mosaic plots (Gotelli and Ellison 2004; de la Cruz et al. 2008). The statistical analyses were performed using R 3.1.0 software (R development core team 2014).

Comparative analysis of population structure and intra-specific associations among size classes

At each population site, a permanent 10 x 10 m² plot was established and subdivided to allow for a thorough survey. Within each plot, all individuals were mapped (see Table 1 for total number of mapped individuals) and classified into three groups according to their

diameter or size classes (Hughes et al. 2011): seedlings (< 50 mm), juveniles (≥ 50 mm), and adults (i.e. with *cephalium*).

Contingency tables were used to summarize and test among the different cactus populations (de la Cruz et al. 2008). To test the differences between size classes, we built contingency tables summarizing the frequency of size classes (seedlings, juveniles and adults) in the five populations examined (Friendly 1994; de la Cruz et al. 2008). These tables were analyzed using log-linear models to fit the expected cell counts to the marginal sums of the contingency table. Deviations from expected frequencies were explored with mosaic plots (Gotelli and Ellison 2004). The statistical analyses were performed using R 3.1.0 software (R development core team 2014).

We applied Ripley's K-function (Ripley 1977; Dixon 2002; Wiegand et al. 2007; de la Cruz et al. 2008) to analyze patterns of spatial segregation and association of the size classes. We employed the L function ($L[r] = \{K[r]/\pi\}^{1/2} - r$) where: $K(r) = N(r)/\lambda$; $N(r)$ is the mean number of neighboring points (or size classes) within a radius r around any point typical of the pattern – i.e., an estimate of the probability of finding a point in the vicinity of another; and λ is the intensity of the pattern, a linearized form of Ripley's K function (Ripley 1977), as an index of dependence between labels in a multiscale spatial pattern (the patterns were obtained between 0 to 2.5 meters with an interval of 0.1 meters), so their results can be directly read within the context of biological interactions in a multi-label context (Goreaud and Pelissier 2003). The populations showed symptoms of heterogeneity (i.e., the intensity function varies spatially within the plot), so the inhomogeneous (i.e., weighted) K -function was used (Wiegand et al. 2007). The intensity function was estimated with the maximum pseudo-likelihood algorithm of Baddeley and Turner (2000).

For each size class, we fitted heterogeneous Poisson models with the heterogeneous intensities modelled as log-linear functions of polynomials of the Cartesian coordinates. We then selected the most parsimonious model using likelihood ratio tests (Table S1; Baddeley and Turner 2006). Edge effects were accounted for with the local weighting method of Ripley (Haase 1995). We tested the observed inhomogeneous L functions against heterogeneous Poisson null model (Wiegand et al. 2007) by comparing each observed function with the 95% confidence intervals of the summary statistics of the patterns produced of 999 simulated inhomogeneous functions of each fitted heterogeneous model (DeSoto et al. 2010).

We found short-distance clustering seedlings and in those cases they were modelled as heterogeneous Poisson cluster processes, minimizing the sum of the differences with the Method of Minimum Contrast (Waagepetersen 2007). We examined the association between size classes in all populations using the inhomogeneous cross-type K -function (Baddeley and Turner 2005). We tested the bivariate functions against the null model of independence (Goreaud and Pelissier 2003) comparing the observed inhomogeneous L_{12} function with the 95% envelopes of the inhomogeneous L_{12} functions obtained from 999 simulations of the fitted heterogeneous Poisson cluster models (DeSoto et al. 2010). Spatial analyses were conducted with the SPATSTAT 1.3.1 package (Baddeley and Turner 2005) in R software.

Cohort establishment and mortality at different distances

We used cross-correlation coefficients to assess the association between bimonthly rainfall values and number of seedlings recruited (refers to a seedling surviving to some later life stage) in the censuses of the populations Me-IT and Mb-IT (Shumway and Stoffer 2011). The analyses were conducted using the Statistica version 6.0 software (StatSoft Inc. 2003).

We compared dead and alive seedling clustering with the difference $K_1(r) - K_2(r)$ to test whether the incidence of mortality is spatially structured in the first and second year. With

the same objective, we tested whether labels of each pattern (i.e. dead or alive seedling) were surrounded by labels of the same type with more or less frequency than expected using the differences $K_1(r) - K^*_{12}(r)$ and $K_2(r) - K^*_{12}(r)$. This test was performed in each year to evaluate whether the spatial pattern of mortality change through time (see de la Cruz et al. 2008 for greater details).

We computed the bivariate $K^*_{12}(r)$ function from the patterns of dead (or alive) seedlings with adult or juveniles individuals of each population (i.e., Me-IT and Mb-IT), to test the specificity of the effects exerted by adult and juveniles on seedling fate and shift through time (first and second year) (de la Cruz et al. 2008). The test consisted of an independent labeling of seedling fates (Monte Carlo simulation) while keeping fixed the pattern of adult or juveniles plants (de la Cruz et al. 2008). The effects were evaluated using the linearized form of the bivariate function $K^*_{12}(r)$ (Dixon 2002). The analyses were performed using the ECESPA 1.1-7 software package (de la Cruz et al. 2008) in R software.

Results

Microhabitat types and seedling fate

A total of 403 seedlings were initially recorded in Mb-IT, 172 in Me-NI, and 103 in Me-IT, with mortality after 24 months of 67, 73 and 86% respectively. Mortality occurred only in individuals ≤ 30 mm in diameter. Recruitment events were dependent on the microrelief structures ($\chi^2 = 83.45$ df = 10; $P < 0.0001$) and populations. Lower-than-expected recruitment was associated with adults and gaps (i.e. pebbles or bare ground; Fig. S2) in Me-NI, an opposite relation seen in Mb-IT, and lack of significant effect in Me-IT (Fig. 1b). Mortality events of seedlings in the Me-NI and Me-IT populations were independent of microhabitats; mortality events in the Mb-IT population were more frequent than expected in

substrate island surrounding adults, but less frequent in fissures and small areas of accumulated soil among the rocks (Fig. 1b).

Population structure and Intra-specific associations among size classes

All five populations exhibited a monotonic structure, in which the number of individuals decreased inversely with the diameter (Table 1). The size class frequencies were significantly different among the five populations ($\chi^2 = 35.37$, $df = 8$, $P < 0.0001$). Adults were more frequent than expected in Me-NI and juveniles less frequent than expected in MI-FS (Fig. 1a).

In all populations Ripley's K -function revealed that the spatial pattern of seedlings was significantly clumped at distances from 0.10 to 1 m, with a maximum distance at 2m (Fig. 2a). Distributions of juveniles and adults were random at all scales (Fig. 2b), with the exception of Mb-IT adults (significantly clumped from 0.30 to 1.5 m). Seedlings had a small-scale positive association with adults in all populations at distances of up to 1.5 m (Fig. 2c, Fig. S2, Fig. S3). Juveniles were also positively associated with seedlings and adults at distances of up to 1.5 m in the Me-MC and at distances from 0.40 to 1.2 m in the MI-FS populations (Fig. 2d), but were independent in the other populations (Fig. S3).

Cohort formation and mortality at different distances

Annual rainfall in populations Me-IT and Mb-IT during the study period was 832 mm in the first year (2011) and 595 mm in the second year (2012) or 34% below the historical average (895 mm). The cross-correlation functions between bimonthly recruitments and accumulated rainfall in the previous two months indicated that rainfall levels regulate cohort formation. Recruitment in Mb-IT occurred with 0 time lag or ~ 60 days ($r = 0.60$, $P = 0.043$) while in Me-IT there was a time lag of 1 or ~ 120 days ($r = 0.78$, $P = 0.004$). Seedlings that

emerged in the first year represented 71 and 82% of the total numbers in Me-IT and Mb-IT respectively.

The survival patterns of both Mb-IT (Fig. 3a–c) and Me-IT (Fig. 3d–f) were significantly more aggregated than mortality. Live seedlings were surrounded by other live seedlings more frequently than would be expected by chance in the two populations, although at different scales: in Me-IT between $0 \leq r \leq 1.0$ m in the first year (data not shown) and $0.60 \leq r \leq 1.10$ m in the second year (Fig. 3e), and in Mb-IT at all scales during the first year and $0.50 \leq r \leq 2.50$ m (Fig. 3b) in the second year (data not shown). Mortality events were variable between years, and values in Me-IT indicated aggregation between $0.30 \leq r \leq 1.00$ m in the first year (data not shown) but did not differ from those expected by chance in the second year (Fig. 3f); the Mb-IT values were consistent between the two years and did not differ from those expected by chance up to 2.10 m, with an aggregated pattern beyond that distance (Fig. 3c).

The spatial association of live and dead seedlings varied both in size classes and over time (Fig. 4). In Mb-IT, seedling death was positively associated with adults beyond 2.20 m and negatively associated between $0.20 \leq r \leq 0.50$ m, while survival was negatively associated at the same scales in the first year (data not shown). The relationship between live and dead seedlings among juveniles was not significant during the first year (data not shown). However, a strong negative association was observed between seedling survival and adults beyond 0.10 m in the second year (Fig. 4a), whereas mortality was positively associated at the same scale (Fig. 4b). Neither alive nor dead seedlings were associated with adults in Me-IT (data not shown), but there was a positive association between juveniles and dead seedlings between $0.50 \leq r \leq 1.00$ m (Fig. 4d) and a negative association with live seedlings (Fig. 4c) that was not observed in the second year (data not shown).

Discussion

The monotonic decrease of individuals along size classes observed in the *Melocactus* populations confirms our hypothesis and suggests size-dependent mortality. This pattern has been seen in many cactus species; however, studies reporting uneven distribution of individuals among size classes are also common (Godínez-Álvarez et al. 2003). Population structure may be influenced by plant performance (i.e., emergence, survival, growth, and density), often associated with facilitation by nurses (Esparza-Olguín et al. 2005; Peters et al. 2008; Hughes et al. 2011) and by anthropogenic disturbances (e.g., habitat destruction and removal of adult individuals; Martorell et al. 2012). These effects are well-documented in drylands (Callaway and Walker 1997; Flores and Jurado 2003; Armas and Pugnaire 2005; Maestre et al. 2009).

Survival in the first months of the early stages is recognized as one of the most important bottlenecks in the long-lived dryland species and may be determined by quick local emergence changes due to exposure to full solar radiation and water stress (Flores and Jurado 2003; Esparza-Olguín et al. 2005; Hughes et al. 2011). This is consistent with high mortality rates during dry months after seedling recruitment in the studied populations of *Melocactus*. Although water availability in rock outcrops is ephemeral, adults plants, fissures and objects in the *Melocactus* populations can retain soil and organic matter, creating islands of fertility that improve seedling emergence and survival. This affirmation is supported by an experimental approach conducted by Munguía-Rosas and Sosa (2008) with *Pilosocereus leucocephalus* and Peters et al. (2008) with eight *Mammillaria* species.

Intraspecific spatial associations are similar for rupicolous taxa of *Melocactus*. Spatial pattern analyses revealed that *Melocactus* seedlings mainly emerged near mature conspecific

individuals, which is consistent with results obtained by Hughes et al. (2011) in *M. ernestii* population (Me-NI). In addition, the bivariate spatial patterns of juveniles with the adult and seedling individuals were significantly different from random at small scales, and a no significant difference was observed in Mb-It and Me-It populations. The levels of spatial association among the size classes *Melocactus* populations indicate the prevalence of short-distance dispersal and aggregated recruitment. Together, these processes and microhabitat structures determine the spatial patterns among several plant families (Ellner and Shmida 1981; Michalet et al. 2006; Santamaría et al. 2007; de la Cruz et al. 2008; Muhamed et al. 2013), and appear to determine the intensities and scales of the patterns observed in *Melocactus*. Three dispersal syndromes were reported for *Melocactus* species: autochory, saurochory, and myrmecochory (Figueira et al. 1994; Fonseca et al. 2012). Seedlings from non-consumed fruits of these plants may be recruited at the maternal site or carried by surface runoff to microrelief structures or nurse plants, while fruits eaten by territorial lizards (e.g., *Tropidurus torquatus*, *T. semitaeniatus*) are usually dropped near their shelters between the rocks and their feeding stations, resulting in enhanced recruitment at small scales and randomness at intermediate scales.

According to the tolerance-competitive tradeoff (Liancourt et al. 2005), stress-tolerant species (e.g., intense solar radiation, drought) are unlikely to benefit much from neighbor-amelioration environmental stress. This is consistent with our observations in *Melocactus* populations and other rupicolous cactus species studied, where adult individuals of these populations rarely were associated with nurse plants (Reyes-Olivas et al. 2002; Peters et al. 2008; Flores-Martínez et al. 2010; Hughes et al. 2011) and seldom grow away from rock outcrops (personal observation). Furthermore, observational approaches suggest an increased capacity to improve harsh environmental conditions by large plants or objects (e.g., enhance

the ability of nutrient pools buildup). Peters et al. (2008) suggest that pebbles may have a positive large effect on cactus seedling recruitment, and Munguía-Rosas and Sosa (2008) experimentally demonstrated predator avoidance near nurse objects.

Seedling fate in the *Melocactus* populations reflects the irregular rainfall distribution and indicates that the positive association between adult plants and seedling survival is not consistent through time, as found in *M. ernestii* by Hughes et al. (2011). In this case, the spatio-temporal decoupling between seedling fate and adult-juvenile plants in years under less and more stressful conditions (i.e., 832 mm rain in the first year and 598 mm in the second year), may be an indication that the positive association between adult plants and seedling survival is not consistent through time and did not shift towards greater positive interaction as expected following the water stress increase in xeric conditions. De la Cruz et al. (2008) reported high seedling mortality rates of *Helianthemum squamatum* (Cistaceae) in a gypsophyte community due to droughts, even when the young plants were associated with adults.

In lithophytic habitats, the occurrence of plant species tolerant to stress factors that are common in rock outcrops (e.g., high temperatures, severe water deficit, soils with very little organic matter) can promote fine-scale association of species in those communities through processes of patch dynamics and differential survival, depending on the life forms and magnitude of environmental severity (Houle and Phillips 1989; Medina et al. 2006; de la Cruz et al. 2008). Additionally, interactions will present a unimodal relationship with an environmental gradient (i.e., facilitation is highest under moderate stress, and the extremes of the gradient lead to a neutral or negative net interaction) due to a decline in the effect of the nurse plant species (Maestre et al. 2009; Michalet et al. 2014). Based on our results we suggest that the relationships among size classes, microhabitat and rainfall pulses in

lithophytic populations of *Melocactus* may be crucial to buffer negative effects of environmental severity in plant performance. Our study contributes to understanding the spatio-temporal dynamics of seedlings fate in lithophytic species of *Melocactus* and their dependence on microrelief structures and nurse plants.

Acknowledgments We thank Nigel P. Taylor (Cactaceae) and Pedro Nahoum (Bromeliaceae) for confirming the identification of plants. Comments by José Eugênio Côrtes Figueira and three anonymous referees greatly improved the final version of the manuscript. This work received financial support from the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - 476337/2010-0). FMH received a PhD scholarship from Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). ELB and CMJ are supported by research productivity grants (CNPq).

Table 1. Location of the *Melocactus* populations (Mb, *M. bahiensis* subsp. *amethystinus*; MI, *M. ernestii* subsp. *longicarpus*; Me, *M.e.* subsp. *ernestii*) in their respective municipalities (IT, Itaobim; FS, Francisco Sá; MC, Morro do Chapéu; NI, Nova Itarana) and the numbers of individuals in each size class (Ad, adults; Jv, juveniles; Sd, seedlings). Rainfall and temperature annual values were derived from Hijmans et al. (2005). Or – Orthogneiss, Gr – Granitoid, Ss – Sandstone. MG, Minas Gerais; BA, Bahia.

Species	Population	Coordinates		Elevation (m)	Lithotype	Rainfall (mm)	Temperature °C	Age structure		
		Longitude (W)	Latitude (S)					Ad	Jv	Sd
<i>Melocactus ernestii</i> subsp. <i>ernestii</i>	Me-NI (BA)	-39.9288	-12.9519	491	Or	661	21.8	15	16	172
<i>M. e.</i> subsp. <i>ernestii</i>	Me-IT (MG)	-41.5763	-16.5946	321	Gr	895	24.1	10	11	103
<i>M. e.</i> subsp. <i>ernestii</i>	Me-MC (BA)	-41.3314	-11.4908	883	Ss	670	21.1	9	27	107
<i>M. e.</i> subsp. <i>longicarpus</i>	MI-FS (MG)	-43.2217	-16.4148	993	Gr	1107	20.4	8	10	120
<i>M. bahiensis</i> subsp. <i>amethystinus</i>	Mb-IT (MG)	-41.4823	-16.5710	252	Gr	891	24.5	21	26	403

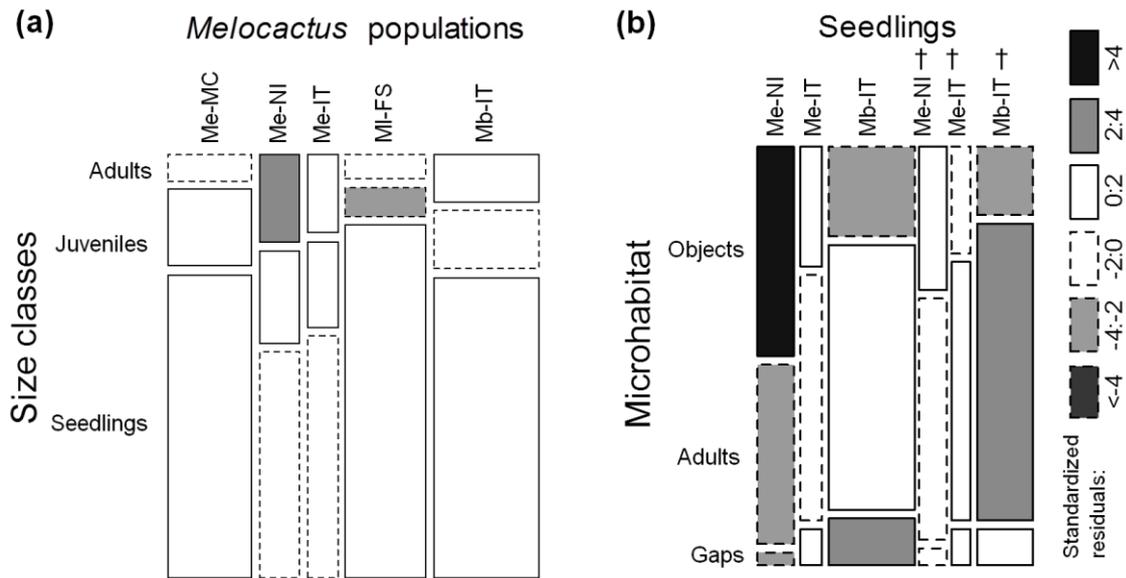


Fig. 1. Mosaic plot of the observed frequencies of: (a) the populations size classes and (b) alive and dead (†) seedlings associated with the microhabitat (in bare ground or pebbles – gaps), recruited in substrate island of the adults (Adults) and objects (growing in fissures and small areas of accumulated soil among the rocks). The solid and dotted lines indicate, respectively, the positive and negative deviations from the expected frequencies. The shading of each rectangle is proportional to standardized residuals from the fitted model (values indicated in the legend). Gray and black rectangles indicate significant deviations from the expected cell frequencies (with $\alpha = 0.05$ and $\alpha = 0.0001$, respectively). See Table 1 for the list of acronyms.

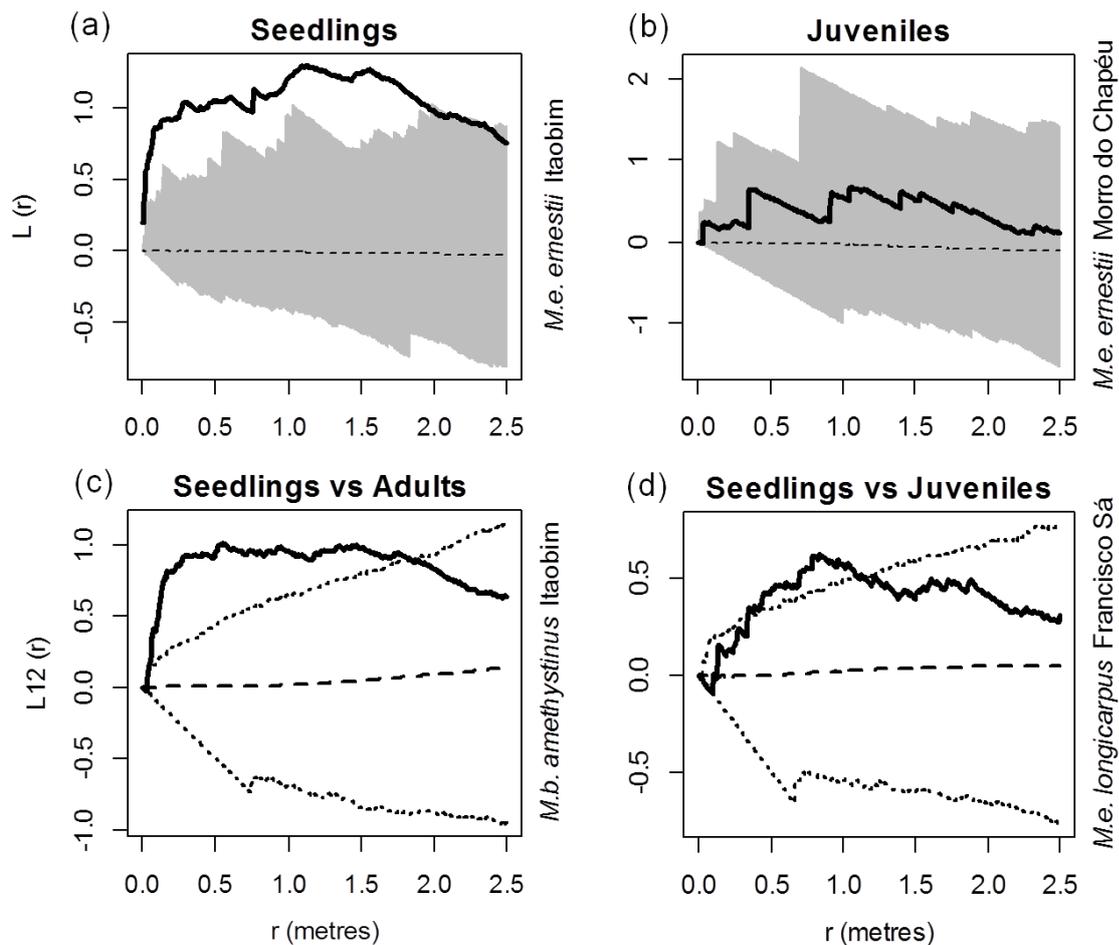


Fig. 2. Univariate – $L(r)$ and bivariate – $L_{12}(r)$ function of the populations of *Melocactus ernestii* subsp. *ernestii*, *M.e.* subsp. *longicarpus*, and *M. bahiensis* subsp. *amethystinus*. (a) seedlings (MeIT); (b) juveniles MeMC; (c) Seedlings vs adults (MbIT); (d) Juveniles vs adults (MIFS). The confidence interval (gray portions or dotted line) is composed of 95% envelopes from 999 simulations of heterogeneous Poisson models – $L(r)$ and simulations of the null model of independence – $L_{12}(r)$ function. Observed values greater than the 95% envelopes indicate significant clumped patterns or spatial attraction. Solid lines represent the estimated functions $L(r)$ or $L_{12}(r)$ in all of the intervals of $0 \leq r \leq 2.5$ m.

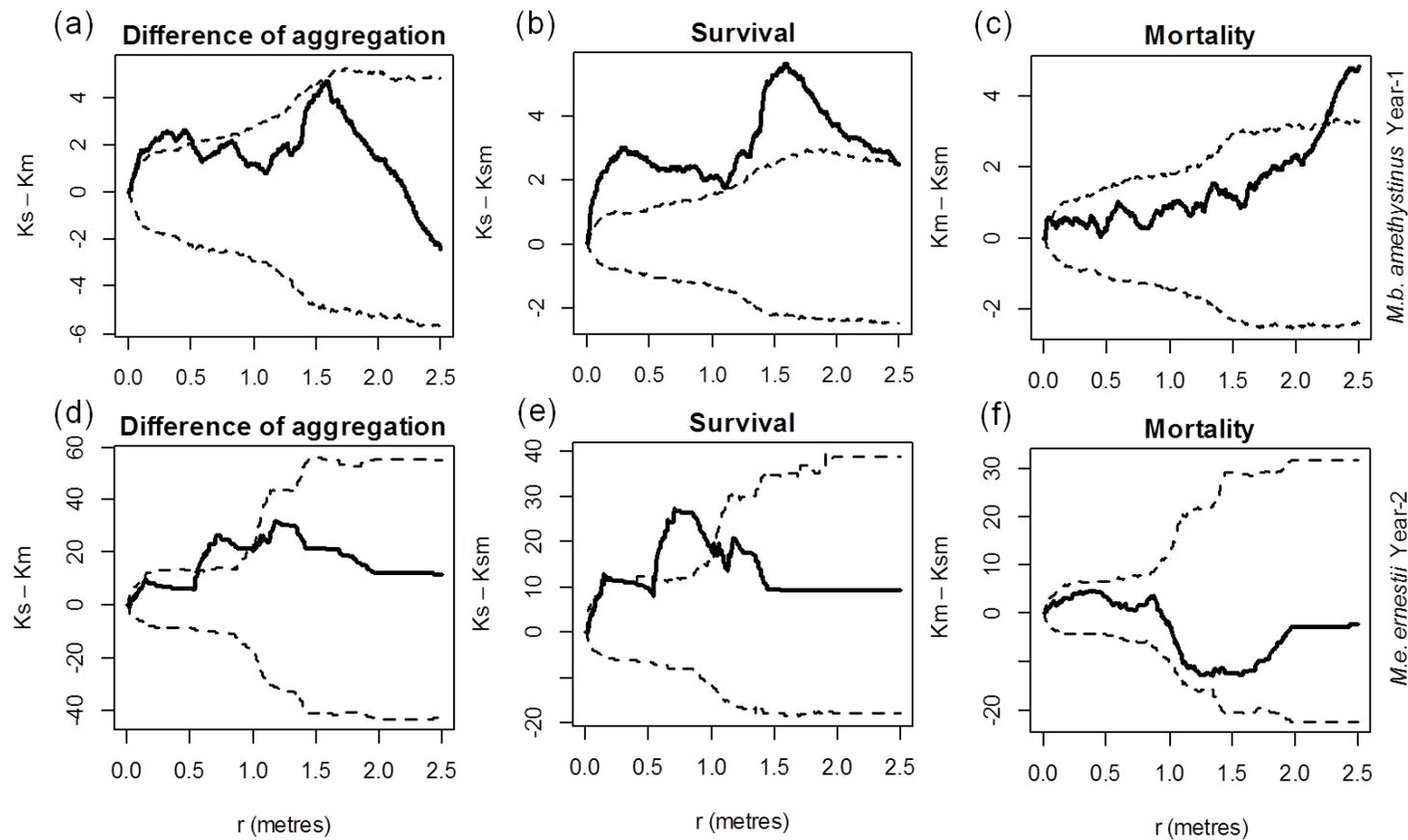


Fig. 3. Differences between the spatial patterns of survival and mortality of *Melocactus ernestii* subsp. *ernestii* and *M. bahiensis* subsp. *amethystinus*. (a; d): difference of aggregation between survival and mortality. (b; e and c; f): Evaluations of the tendencies of alive (b; e) and dead (c; f) seedlings to be surrounded by other seedlings of the same label. K_s : univariate K function for the survival pattern, K_m : univariate K function for the mortality pattern, and K_{sm} : bivariate K function for the patterns of survival and mortality. The solid line represents the observed difference and the dotted line the 2.5 and 97.5% percentiles of the distribution of the difference computed on 999 random assignments of the labels “alive” and “dead” over the population of seedlings remaining each year.

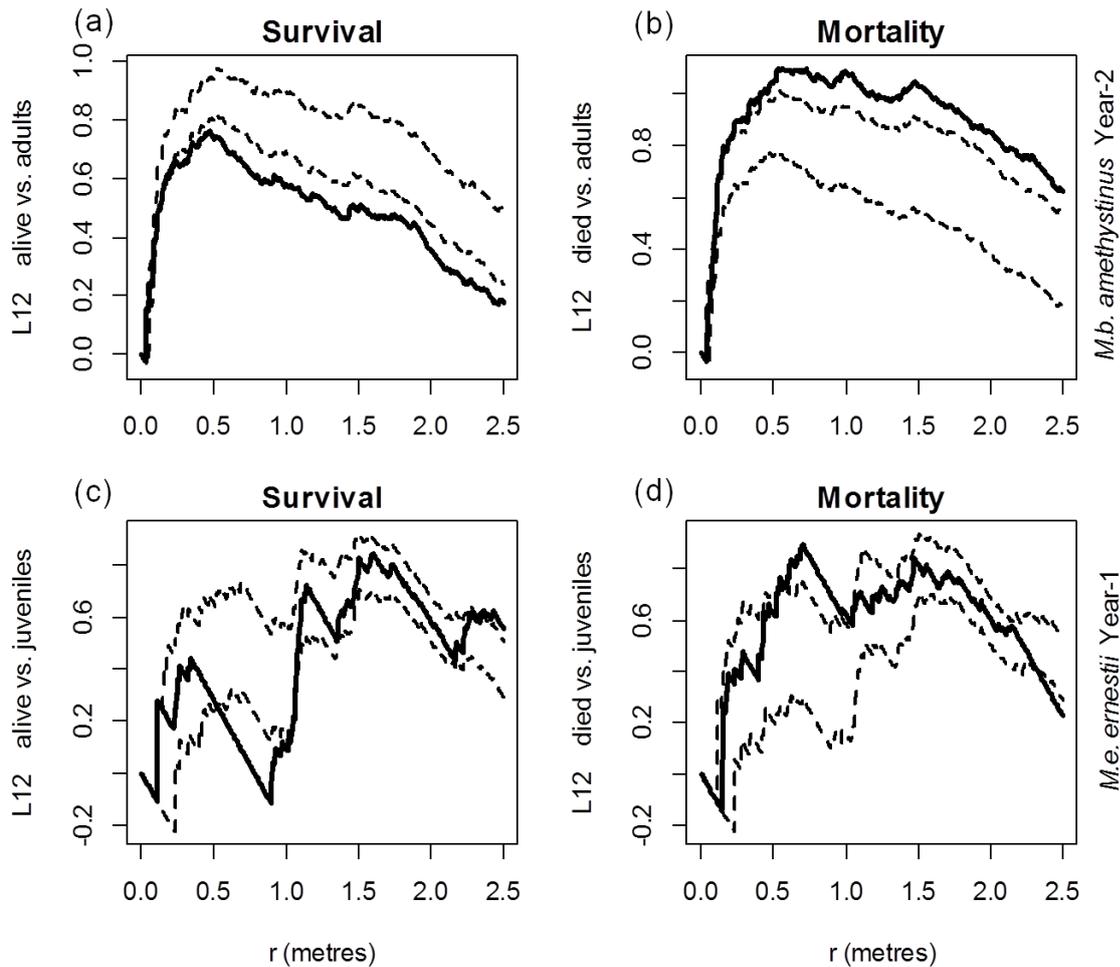
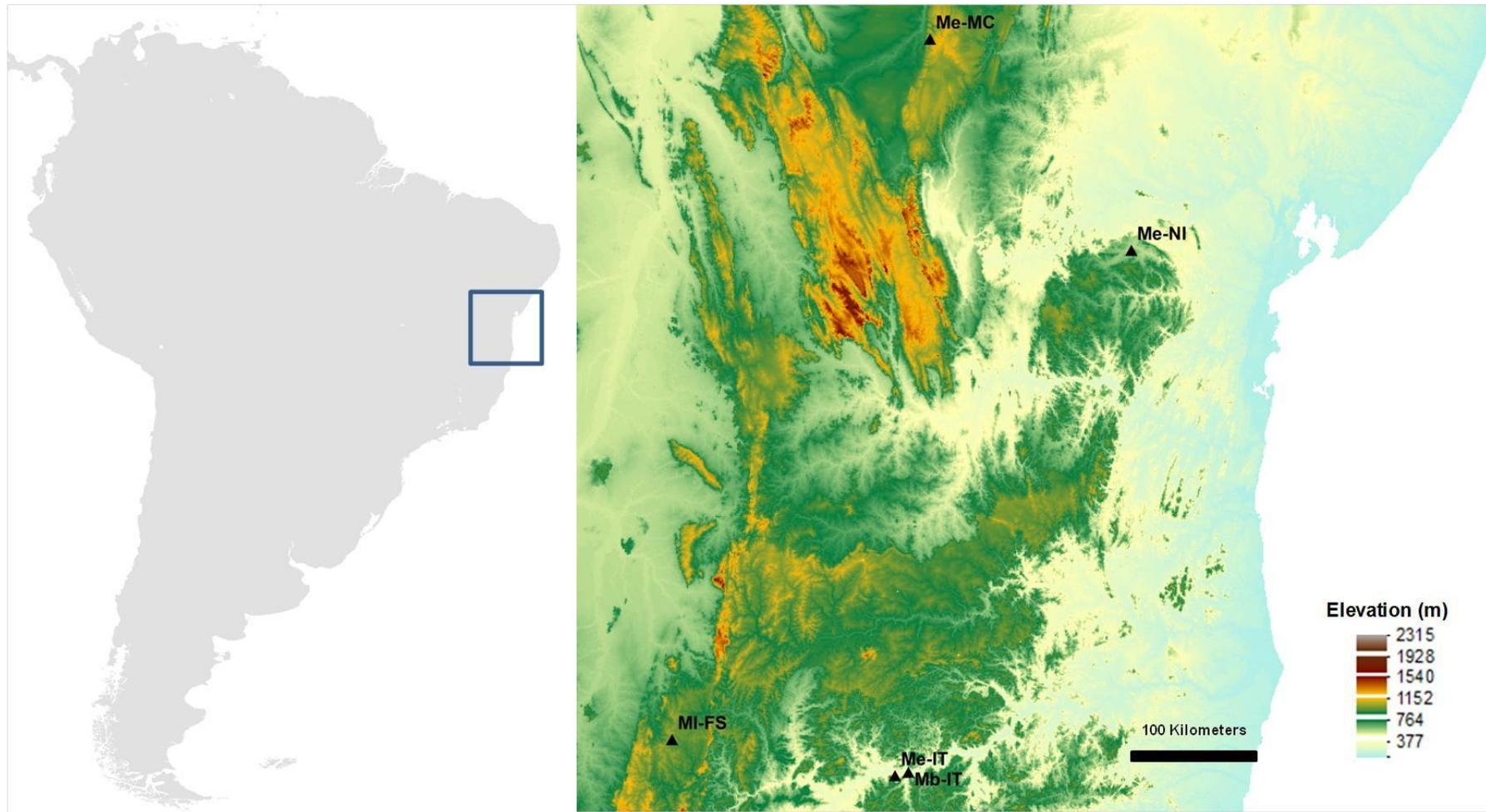


Fig. 4. Temporal changes in the spatial relationships of the survival and mortality of seedlings of *M. bahiensis* subsp. *amethystinus* (second year, a–b) between adults, and seedlings of *Melocactus ernestii* subsp. *ernestii* (first year, c–d) between juveniles. Solid lines represent the differences, and the dotted lines the significance, of the distribution pattern function computed using 999 MC simulations of the random labels “survival” and “mortality”. In all cases, the expected difference under the null hypothesis of random labeling is 0. Function values above the upper line of the confidence envelope indicate groupings, values within the envelope indicate randomness or independent labeling of the observed function L_{12} , while values below the lower line of the envelope indicate repulsion.

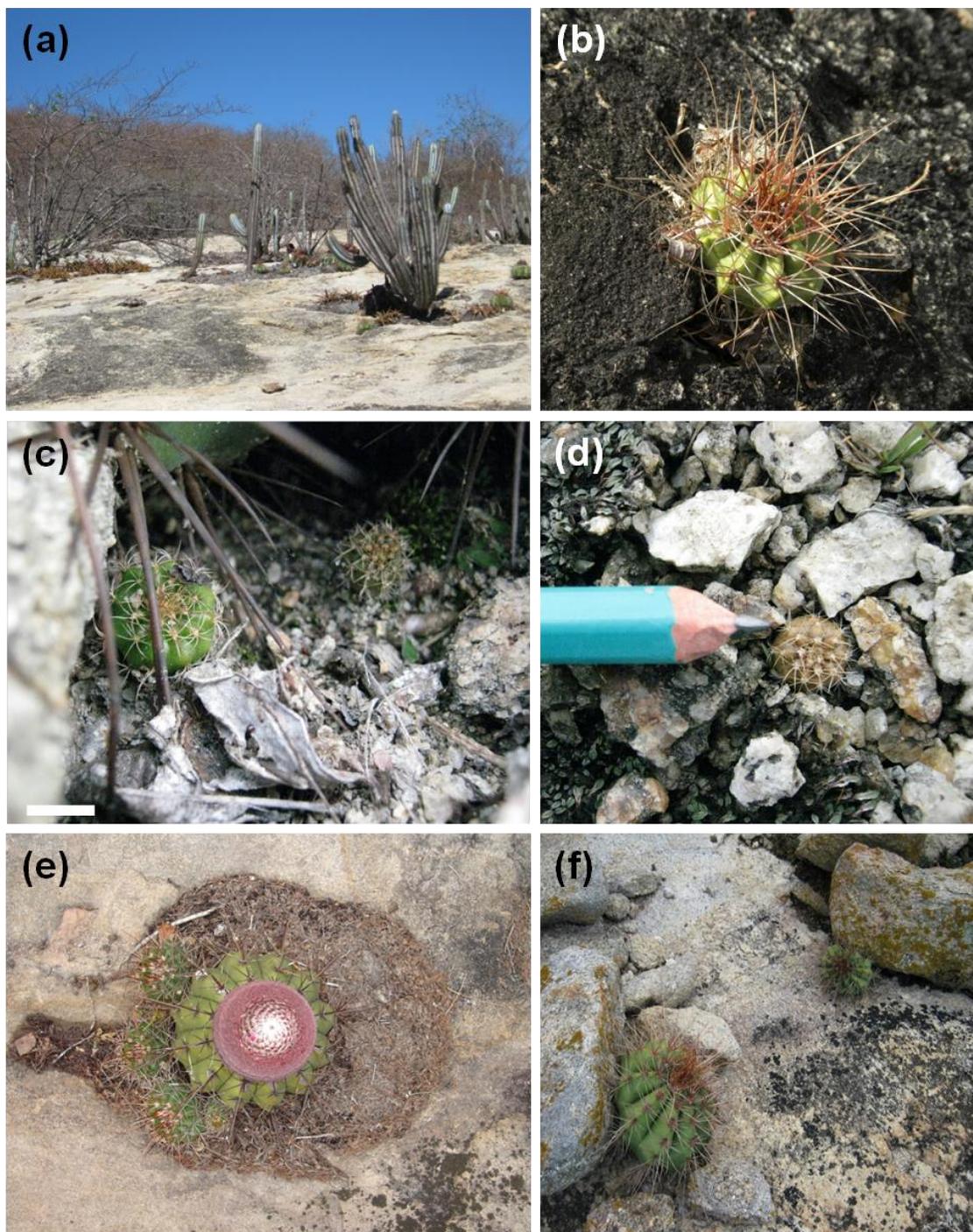
Electronic Supplementary Material (ESM)

Supplementary Table 1. Sequential analysis of the differences in fit homogeneous and non-homogeneous poisson models of size classes patterns in the studied populations of *Melocactus* spp.

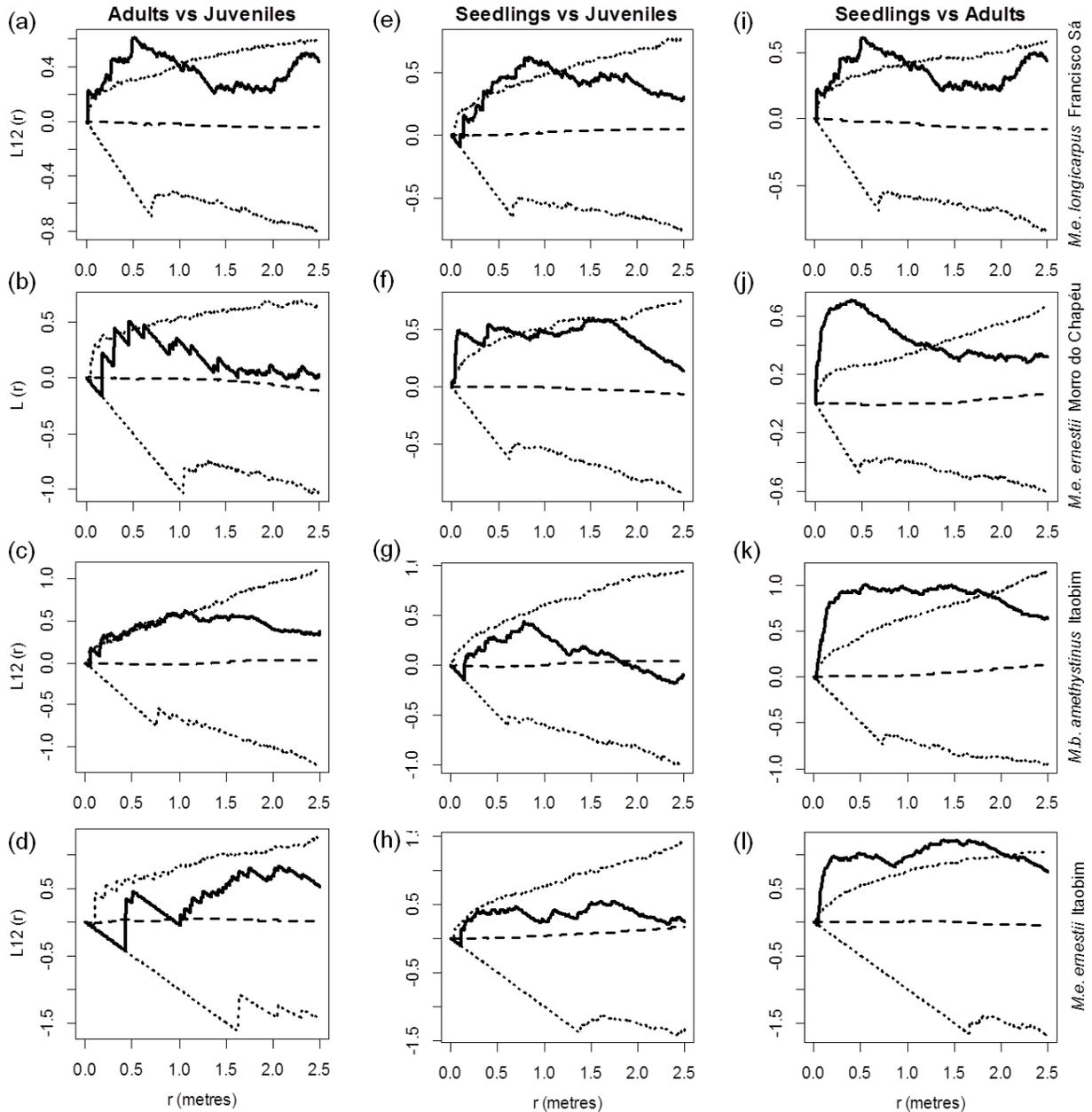
Species	Population	Size classe	Model	Δ G.L.	Δ Deviance	P(> Chi)
<i>Melocactus ernestii</i> subsp. <i>ernestii</i>	MeMC	Seedling	homogeneous			
			x+y	2	10.4400	0.0054
		(x+y) ²	1	52.6920	0.0000	
		Juvenile	homogeneous			
			x+y	2	2.9873	0.2246
		(x+y) ²	1	7.6924	0.0055	
	Adult	homogeneous				
		x+y	2	3.8835	0.1435	
	(x+y) ²	1	4.7978	0.0285		
	MeNI	Seedling	homogeneous			
			x+y	2	16.7190	0.0002
		(x+y) ²	1	35.9790	0.0000	
Juvenile		homogeneous				
		x+y	2	1.2509	0.5350	
(x+y) ²		1	9.3574	0.0022		
Adult	homogeneous					
	x+y	2	0.4412	0.8020		
(x+y) ²	1	1.0798	0.2987			
MeIT	Seedling	homogeneous				
		x+y	2	73.2590	0.0000	
	(x+y) ²	1	55.0420	0.0000		
	Juvenile	homogeneous				
		x+y	2	1.4345	0.4881	
	(x+y) ²	1	0.0111	0.9161		
Adult	homogeneous					
	x+y	2	7.5970	0.0224		
(x+y) ²	1	3.6969	0.0545			
<i>M. b. amethystinus</i>	Seedling	homogeneous				
		x+y	2	13.4980	0.0012	
	(x+y) ²	1	1.3542	0.2445		
	Juvenile	homogeneous				
		x+y	2	7.1144	0.0285	
	(x+y) ²	1	6.7675	0.0093		
Adult	homogeneous					
	x+y	2	1.2183	0.5438		
(x+y) ²	1	2.1923	0.1387			
<i>M. e. longicarpus</i>	Seedling	homogeneous				
		x+y	2	72.5850	0.0000	
	(x+y) ²	1	3.2650	0.0708		
	Juvenile	homogeneous				
		x+y	2	3.2554	0.1964	
	(x+y) ²	1	1.5918	0.2071		
Adult	homogeneous					
	x+y	2	2.6013	0.2724		
(x+y) ²	1	0.7690	0.3805			



Supplementary Figure 1 Location of the studied populations. *Melocactus ernestii* subsp. *ernestii* (Me-IT; Me-MC; Me-NI); *M. ernestii* subsp. *longicarpus* (MI-FS); and *M. bahiensis* subsp. *amethystinus* (Mb-IT).



Supplementary Figure 2. Substrate islands within the *Melocactus ernestii* subsp. *ernestii* population (a); seedlings (20 mm diameter) of *M. ernestii* subsp. *longicarpus* established in a fissure in the rock (b); seedlings recruited in a substrate island at the base of a conspecific adult, scale bar = 5 mm (*M.e. ernestii* Itaobim – c and *M.e. ernestii* Nova Itarana – e); seedlings (2 mm diameter) of *M. bahiensis* subsp. *amethystinus* recruited between pebbles (d) and juveniles of *M.e. ernestii* – Itaobim growing isolated in rock fragmented (f).



Supplementary Figure 3 Bivariate $-L_{12}(r)$ function of the populations of *Melocactus ernestii* subsp. *ernestii* (Me-IT and Me-MC), *M.e.* subsp. *longicarpus* (MI-FS), and *M. bahiensis* subsp. *amethystinus* (Mb-IT). (a-d) Juveniles vs adults; (e-h) Juveniles vs seedlings; (i-l) Seedlings vs adults. The confidence interval (dotted lines) is composed of 95% envelopes from 999 simulations of the null model of independence $-L_{12}(r)$ function. Observed values greater than the 95% envelopes indicate significant clumped patterns or spatial attraction. Solid lines represent the estimated functions $L_{12}(r)$ in all of the intervals of $0 \leq r \leq 2.5$ m.

2

**Processos demográficos de cactos rupícolas no leste do Brasil:
contraste entre população central e marginal, e ameaças
antrópicas**

Processos demográficos de cactos rupícolas no leste do Brasil: contraste entre população central e marginal, e ameaças antrópicas

Frederic Mendes Hughes · José Eugenio Côrtes Figueira · Claudia Maria Jacobi

Departamento de Biologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais 31270-901, Brasil

e-mail: fredericmhughes@gmail.com

Eduardo Leite Borba

Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Santo André, São Paulo 09210-170, Brasil

Resumo

Neste estudo, comparamos o comportamento demográfico e fenológico de duas populações de *Melocactus ernestii*, uma situada na região central de ocorrência e a outra em sua periferia. Ambas foram comparadas com uma população central de *M. bahiensis*. Censos foram conduzidos a cada dois meses nas três populações durante dois anos e sintetizados em matrizes de transição anuais. As populações diferiram na intensidade de fenofase, microhabitat e tamanho de indivíduos adultos. As curvas de sobrevivência não diferiram entre as populações central e marginal de *M. ernestii*, mas foram diferentes da curva de *M. bahiensis*. A partir das simulações com estocasticidade ambiental indicamos que a taxa de crescimento (λ) da população central de *M. ernestii* excede a da população marginal. Taxas de extração anual de adultos acima de 10% poderiam causar rápido declínio populacional. Com base nas análises retrospectivas (LTREs) mostramos que sobrevivência de adultos, fecundidade e crescimento de plântulas são os maiores contribuintes para a diferença interanual e entre populações em λ . De acordo com os modelos, o comportamento demográfico das populações estudadas é fortemente dependente da manutenção de adultos, que possui efeito tamponante da elevada mortalidade nos estádios iniciais de desenvolvimento, possibilitando a persistência de populações nos limites de distribuição da espécie.

Palavras-chave: Dinâmica populacional, extrativismo, fenologia, LTRE, *Melocactus*, Modelos matriciais

Introdução

A estruturação de populações no espaço geográfico-ambiental reflete condições e recursos dentro das fronteiras que compreendem seu nicho ecológico (Lesica & Allendorf 1995; Holmes & Semmens 2004). Mudanças temporais nas condições ambientais, onde indivíduos podem apresentar desempenho diferencial, também são importantes na determinação dos limites geográficos (Antonovics 1976; Ives & Klopfer 1997; Pulliam 2000). Por exemplo, populações marginais podem estar próximas dos seus limites climáticos, e flutuações ambientais podem afetar sua persistência e dinâmica populacional (Angert 2006; Giménez-Benavides et al. 2011).

Populações marginais frequentemente apresentam menor densidade populacional e fecundidade ou sobrevivência reduzida, quando comparadas com populações no centro da distribuição da espécie (Jump & Woodward 2003; Giménez-Benavides et al. 2007). No entanto, o crescimento e a persistência de uma população podem não ser diretamente dependentes das reduções no sucesso reprodutivo (Giménez-Benavides et al. 2011). De fato, a persistência de muitas populações de plantas de vida longa se deve à longevidade dos indivíduos reprodutivos (García & Zamora 2003; Drezner & Lazarus 2008). Por outro lado, os limites populacionais podem ser definidos pela interação com polinizadores que têm o potencial de alterar radicalmente a demografia em populações pequenas e isoladas, principalmente quando o sistema reprodutivo é preferencialmente alógamo (Holmes & Semmens 2004; Kolb 2005).

A distribuição geográfica dos cactos tem sido explicada por uma combinação de diferentes atributos (p.e., variáveis climáticas, heterogeneidade edáfica) que determinam os níveis de raridade e endemismos (Taylor & Zappi 2004). No leste do Brasil ocorrem 37 gêneros nativos e 227 espécies de cactos (78% endêmicas), sendo 63 destas endêmicas do domínio fitogeográfico da Caatinga (Zappi et al. 2010), o terceiro bioma brasileiro mais alterado antropicamente (Myers

et al. 2000). A maioria dos estudos recentes apontam que cactos respondem negativamente à fragmentação do habitat e extrativismo indiscriminado de indivíduos para comercialização (Valverde et al. 2004; Martínez et al. 2010; Zepeda-Martínez et al. 2013). Esses distúrbios são os principais responsáveis pela ameaça de extinção de populações locais e alterações drásticas dos parâmetros demográficos das cactáceas (p.e., Ureta & Martorell 2009; Martínez et al. 2010; Martorell et al. 2012), e podem ser potencializados pelo crescimento lento (Drezner 2003; McIntosh et al. 2011), baixo potencial dispersivo (Figueira et al. 1994), elevada especificidade de habitat (Martínez et al. 2010), taxa de mortalidade acentuada nos estádios iniciais de desenvolvimento e dependência de indivíduos reprodutivos para manutenção populacional (Godínez-Álvarez et al. 2003) típicos das cactáceas. Conseqüentemente, muitas espécies de cactos estão em declínio populacional acelerado (Portilla-Alonso & Martorell 2011; IUCN 2013; Zepeda-Martínez et al. 2013).

O conhecimento básico acerca do comportamento demográfico e resposta populacional de cactos brasileiros é o primeiro passo para direcionar ações de manejo e conservação (PAN 2010). Atualmente não existem estudos demográficos de cactos no Brasil, e poucos estudos têm documentado a dinâmica populacional de cactos em afloramentos rochosos (Valverde et al. 2004; Munguía-Rosas & Sosa 2008; Martínez et al. 2010; Hughes et al. 2011). Entretanto, estudos demográficos têm sido conduzidos com métodos relativamente semelhantes para espécies de cactos (Godínez-Álvarez et al. 2003), desse modo eles também são úteis para análises comparativas (p.e., Salguero-Gómez & de Kroon 2010; Crone et al. 2011). Portanto, análises demográficas que abordam o desempenho individual devem ser utilizadas para quantificar as repostas populacionais às mudanças ambientais e impactos antrópicos, e entender os fatores que determinam os limites de distribuição de espécies (Angert 2006; Crone et al. 2011).

A demografia de muitas plantas de vida longa como os cactos é baseada em estudos de curta duração e pouca representação da heterogeneidade ambiental (Godínez-Alvarez et al. 2003; Crone et al. 2011), e o comportamento demográfico sintetizado com a utilização de modelos matriciais com *simple random matrix selection* ou *element selection* (Godínez-Álvarez et al. 2003). Esses modelos constituem uma poderosa ferramenta analítica, pois permitem projetar o destino de uma população em diferentes cenários, e avaliar as contribuições relativas dos diferentes processos demográficos na dinâmica populacional. Além disso, matrizes de transição são utilizadas para compreender as respostas de populações naturais frente a distúrbios antrópicos e variabilidade ambiental (Lefkovitch 1965; de Kroon et al. 1986; Caswell 2001).

Nesse estudo, adotamos o método *element selection* (Gotelli 1991) como uma tentativa de contornar a falta de repetições espaciais, assincronia, e o pouco tempo de duração do estudo, incorporando a variabilidade da resposta populacional de *Melocactus* às flutuações climáticas. Esses modelos *time-variant* podem representar de maneira mais adequada as respostas populacionais às flutuações ambientais, e contrastar o desempenho entre regiões centrais e marginais da área de ocorrência da espécie (Caswell 2001). Ao longo de um período de dois anos, comparamos a demografia e características reprodutivas de duas populações de *Melocactus ernestii* na região central e marginal de sua distribuição geográfica, e uma população congênica de *M. bahiensis*, endêmicas do leste do Brasil (Taylor & Zappi 2004). Essas espécies apresentam características similares em suas histórias de vida, tais como formato globoso, não clonais, de vida longa, com fenofases de floração e frutificação contínuas e reguladas por pulsos de precipitação (Hughes 2009; Fonseca et al. 2008). Além disso, as espécies são sintópicas no limite sul da distribuição de *M. ernestii* e são isoladas em afloramentos rochosos, representado por uma paisagem com elevada heterogeneidade topográfica e climática (Velloso et al. 2002; Taylor &

Zappi 2004). Assim, esperávamos encontrar variações previsíveis nas importâncias e tipos de transição que compõem suas matrizes, acarretando diferenças em λ .

Especificamente, as questões abordadas foram: (1) Características do microhabitat e tamanho de indivíduos adultos explicam possíveis diferenças reprodutivas entre populações? (2) A população marginal de *M. ernestii* experimenta uma tendência de declínio populacional? (3) A população congênica *M. bahiensis* apresenta comportamento demográfico similar quando comparada com a população sintópica *M. ernestii*? (4) Qual o efeito da redução da fecundidade ou da presença de extrativismo de indivíduos adultos em λ ? (5) Quais são as taxas vitais responsáveis pelas diferenças espaciais e temporais observadas nas taxas de crescimento das populações?

Materiais e Métodos

Sistema de estudo e pesquisa de campo

Este estudo foi conduzido em duas populações de *Melocactus ernestii*, MeM representando a população no limite sul da distribuição da espécie no município de Itaobim – Minas Gerais e MeC a população na área central no município de Nova Itarana – Bahia, e em uma população de *Melocactus bahiensis* subsp. *amethystinus* (MbC – Minas Gerais) na região central de sua distribuição (Figura Suplementar 1; Taylor & Zappi 2004). As populações MeM e MbC (334 metros de altitude) distam 10 Km uma da outra e ocorrem em uma área com precipitação média anual de 854 mm, temperatura média anual de 24 °C e elevada oscilação nos volumes de chuva 78% (coeficiente de variação da precipitação - CV). A população MeC (515 m acima do nível do mar), distante \approx 430 Km das demais populações, ocorre em uma área com precipitação média anual de 677 mm, temperatura média anual de 23 °C e CV de 39% da

precipitação (Figura Suplementar 1; Hijmans et al. 2005). Durante o período de estudo, a precipitação foi de 832 mm (2011-2012) e 595 mm (2012-2013) para MeM e MbC, e de 600 mm (2006-2007) e 32 mm (2007-2008) para MeC (Instituto Nacional de Meteorologia – INMET, acessado em 15 de Janeiro de 2013).

Indivíduos de ambas as espécies são encontrados isoladamente e eventualmente em associação com plantas perenes (como *Orthophytum glabrum*, *O. saxicola*, Bromeliaceae, e *Tacinga palmadora*, Cactaceae; Capítulo 1). São cactos rupícolas, e geralmente ocorrem em depressões e fendas ou parcialmente protegido por fragmentos de rocha (Hughes et al. 2011; Capítulo 1). A partir de experimentos de polinização controlados conduzidos na população MeC, Hughes (2009) encontrou um efeito positivo de beija-flores polinizadores no sucesso reprodutivo. Resultados similares deste efeito também foram observados em outras espécies do gênero, por exemplo, *Melocactus glaucescens* e *M. paucispinus* (Colaço et al. 2006), *M. curvispinus* (Nassar & Ramírez 2004), e *M. ernestii* (Gomes et al. 2013).

Recrutamento, sobrevivência e crescimento dos cactos foram monitorados a cada dois meses, durante dois anos, em indivíduos marcados em uma parcela de 10 x 10 m² em cada uma das três populações. Dentro de cada parcela, indivíduos foram mapeados e medidos largura e altura do cladódio (parte vegetativa) e cefálio (uma estrutura terminal que caracteriza a fase reprodutiva em *Melocactus*). Monitoramos mensalmente, durante dois anos, a produção de flores e frutos em 41 indivíduos em cada população, permitindo estimativas de intensidade de floração e frutificação (Nassar & Ramirez 2004) e associação entre produção de flores e frutos (correlação de Pearson). Trinta frutos foram coletados a partir desses 41 indivíduos para determinar o número médio de sementes por fruto, e avaliar a correlação entre o tamanho do fruto e quantidade de

sementes. Dentro das parcelas, cada plântula foi mapeada, medida (precisão de 0,01 mm) e o seu crescimento e sobrevivência monitorados.

Associação fenofases-precipitação e diferença da sobrevivência entre populações

Correlação cruzada com defasagens de tempo (Shumway & Stoffer 2011) foram usadas para evidenciar possíveis correlações entre produção mensal de frutos e flores e a precipitação pluviométrica. Todas as variáveis foram transformadas pelo logaritmo natural para cumprir com os pressupostos de linearidade (Legendre & Legendre 2012). Funções de sobrevivência de plântulas das três populações foram estimadas a partir do método não-paramétrico Kaplan-Meier product-limit, e as diferenças entre as médias das curvas de sobrevivência foram comparadas com o teste log-rank (Kaplan & Meier 1958; Kleinbaum & Klein 2005; Rojas-Sandoval & Meléndez-Ackerman 2012).

A partir dos dados de crescimento anual para as três populações, análises de regressão por etapas (Stepwise) foram empregadas para: (i) construir curvas de crescimento, (ii) estimar as relações entre largura e idade, e (iii) avaliar as diferenças nas taxas de crescimento entre populações (para maiores detalhes ver Drezner 2003). Nenhum dos modelos de regressão foi significativamente afetado por estruturas de erros não-normais (testes de Kolmogorov-Smirnov) ou autocorrelação (testes de Durbin-Watson). Estas análises foram realizadas no software Statistica versão 6.0 (StatSoft 2003).

Efeito da heterogeneidade ambiental e tamanho das plantas na produção de flores e frutos

As características do microhabitat (i.e., porcentagem de área exposta de solo, de rocha, e de cobertura vegetal viva e/ou morta) foram avaliadas em um quadrado de 1 x 1 m² centrado em

cada adulto ($n = 41$), cujo tamanho foi medido. As variáveis foram normalizadas por meio de uma transformação box-cox maximizando a função de log-verossimilhança. One-way ANOVA com comparações *post hoc* entre médias, a partir do teste múltiplo Student-Newman-Keuls, foram usadas para avaliar as diferenças na heterogeneidade microambiental e produção de flores e frutos entre as populações.

Possível influência do microhabitat na produção de flores e frutos de adultos de diferentes tamanhos foi explorada por modelos regressivos (linear, exponencial, polinomial e potencial) (Crawley 2013). Modelos regressivos múltiplos com seleção stepwise foram usados para relacionar produção de flores ou frutos com tipo de solo e cobertura vegetal, tendo o tamanho do cladódio como covariável (Crawley 2013). Nenhum dos modelos de regressão foi significativamente afetado por estruturas de erros não-normais (testes de Kolmogorov-Smirnov) e autocorrelação (testes de Durbin-Watson). Essas análises foram realizadas no software R (R Development Core Team, 2014).

Matrizes de projeção populacional

Para descrever os dados demográficos, os indivíduos foram divididos em quatro classes de tamanho definidos por suas larguras e / ou maturidade sexual: $1 \text{ mm} < \text{plântulas (S)} \leq 50 \text{ mm}$, $50 \text{ mm} < \text{juvenil pequeno (J1)} \leq 100 \text{ mm}$, $\text{juvenil grande (J2)} \geq 100 \text{ mm}$, e $\text{adulto (A)} > 100 \text{ mm}$ e tendo cefálio. Devido ao pequeno número de adultos dentro das parcelas avaliadas, adultos acompanhados nos estudos fenológicos ($n = 41$) foram utilizados para estimar a sobrevivência nesta classe de tamanho. O número de plântulas e indivíduos adultos foi empregado para calcular as fecundidades nas análises subsequentes (fecundidade anual = número de plântulas/adultos).

Construímos modelos de projeção de tempo-invariante para as populações centrais e marginal em cada ano, e seus respectivos modelos derivativos tempo-variante (van Groenendael et al. 1988; Gotelli 1991). Os modelos tempo-invariantes foram usados para obter as taxas finita de crescimento populacional (λ), autovetores representativos da distribuição de estágio estável e o valor reprodutivo associado com cada um dos estágios. Além disso, foram obtidas as sensibilidades e elasticidades de cada elemento da matriz de transição (de Kroon et al. 1986).

Simulações estocásticas e análises retrospectivas (LTREs)

Adotamos o método *element-selection* (Gotelli 1991) para gerar 500 matrizes aleatorizadas tempo-variante para cada população, utilizado neste caso as matrizes de transição das populações e anos como repetições espaciais e temporais. Neste modelo, $\mathbf{A}(t)$ é a matriz de projeção tempo-variante, cujos elementos a_{ij} denotam as transições do estágio n_i para o estágio n_j , permutada a partir das matrizes iniciais tempo-invariante \mathbf{A} . Este modelo é uma tentativa de contornar a falta de repetições espaciais, assincronia e curta duração do estudo, incorporando também a variabilidade climática das regiões estudadas. Restringimos a permutação aleatória limitando a soma dos elementos de cada coluna da matriz (i.e., sobrevivência = 1,0), o que permitiu a permuta livre de todos os elementos da matriz, diferentemente de Gotelli (1991) que aleatorizou somente as fecundidades.

A partir de experimentos de polinização controlados conduzidos na população MeC (Hughes 2009), simulamos o efeito da ausência dos beija-flores no crescimento populacional subtraindo da fecundidade a contribuição potencial da polinização aberta na produção de frutos e sementes. Também simulamos os efeitos das taxas de extração anuais e plurianuais de adultos sobre as taxas de crescimento da população (λ). Utilizamos as matrizes das populações central e

marginal como repetições, através de permutação aleatória dos seus elementos (a_{ij}), conforme já descrito. O teste de Wilcoxon foi empregado para comparar os valores de λ entre populações. Estruturas populacionais observadas e esperadas nas populações MeC, MeM e MbC, foram comparadas pelo teste G com correção de Yates.

Life table response experiments (LTRE) comparam as influências de um conjunto completo de taxas vitais, sintetizado pelas matrizes de transição de elementos obtidos em momentos diferentes e / ou em diferentes condições ambientais nas taxas de crescimento populacional (Caswell 1996). LTRE foram utilizadas para analisar a variação interanual e espacial entre populações, e identificar os elementos matriciais responsáveis pelo aumento ou decréscimo em λ_A . Para a variação interanual, utilizamos a matriz média (c) de cada população como referência (p.e., $\mathbf{A}^{(c)}$, com taxa de crescimento $\lambda^{(c)}$), obtidas com 500 aleatorizações, e avaliamos o efeito dos elementos das matrizes interanuais (p.e., $\mathbf{A}^{(c1^{ano})}$, $\mathbf{A}^{(c2^{ano})}$; com taxa de crescimento $\lambda^{(c1^{ano})}$ e $\lambda^{(c2^{ano})}$) em $\lambda^{(c)}$. Adicionalmente, empregamos LTRE para analisar a variação espacial entre populações de *Melocactus*, utilizando a matriz média aleatorizada das seis matrizes de transição como referência. O efeito de cada tratamento em λ foi decomposto em contribuições de cada um dos elementos da matriz, $\lambda^{(c)} - \lambda^{(c1)} \approx \sum[(a_{ij}^{(c)} - a_{ij}^{(c1)}) \cdot \delta\lambda / \delta a_{ij}]$, e as sensibilidades de cada elemento ($\delta\lambda / \delta a_{ij}$) foram avaliadas entre a matriz referência e os tratamentos. Nesse caso, utilizamos a soma de todos os elementos ($\sum a_{ij}$) e dos processos demográficos separadamente (R – retrogressão, E – estasis, G – crescimento, F – fecundidade) nas matrizes de contribuições relativas para determinar os efeitos em λ . Os valores podem ser negativos ou positivos. Se for negativo, informa que o padrão observado de variabilidade envolvendo a_{ij} atuou na redução em λ . Assim, utilizamos one-way fixed-design seguindo os métodos descritos em Caswell (1996; 2001).

Resultados

As populações MeC, MeM e MbC estão localizadas em habitats com climas contrastantes. As chuvas são muito mais sazonais e cerca de quatro vezes menor no trimestre mais seco na região de ocorrência de MeM e MbC, mas de uma maneira geral, determinam a sobrevivência, o crescimento e a fenologia reprodutiva das plantas nas três populações. Com relação à fenologia, são observadas defasagens de tempo de um ou dois meses ($r \geq 0,42$; $P < 0,05$) entre o volume de chuvas e a proporção de plantas florescendo e frutificando. A sobrevivência das plântulas em MeC e MeM não diferiu (Log-Rank test: $\chi^2 = 0,140$; $gl = 1$; $P = 0,709$; Fig. 1), mas ambas diferiram da coorte de plântulas de MbC (Log-Rank test: $\chi^2 = 20,75$, $gl = 2$, $P < 0,0001$). As três populações apresentaram elevada mortalidade nos primeiros 250 dias e depois tenderam a uma certa estabilidade ($\approx 32\%$ de sobrevivência) (Fig. 1).

Os cactos atingem os maiores tamanhos (largura média \pm SD) na população central MeC ($154 \pm 3,0$ mm) seguida por MeM ($147 \pm 5,9$ mm) e MbC ($138 \pm 10,6$ mm), sendo o crescimento mais acelerado em MbC, seguida por MeC e MeM (Tabela S1). Um indivíduo de *Melocactus* de 10 mm de largura que cresceu 6,72 mm em dois anos na população MeC, crescerá 3,87 mm em MeM. Em consequência, indivíduos de *Melocactus* na população MeM alcançam o tamanho médio observado na fase adulta em cerca de 36 anos, seguido por MeC (34 anos) e MbC (30 anos).

As populações diferiram na produção de flores e frutos entre os anos, e também na razão fruto:flor, mas não diferiram na sua intensidade de floração (Tabela 1). Os maiores indivíduos produzem mais frutos (Tabela S2) e os maiores frutos mais sementes ($r = 0,57$; $P < 0,0001$), com MeC ($29,70 \pm 2,72$ mm) e MbC ($22,38 \pm 1,33$ mm) apresentando frutos maiores que MeM (16,41

$\pm 6,86$ mm). A produção de sementes diferiu entre populações ($F = 56,91$; $P < 0,0001$), com MeC produzindo mais sementes na média ($53,60 \pm 18,71$) que MeM ($17,87 \pm 8,17$) e MbC ($25,97 \pm 11,76$). No entanto, a produção de flores e frutos também foi influenciada pelo micro-habitat de cada adulto reprodutivo (Tabela S2). Em todas as populações indivíduos com maior quantidade de fitomassa associada (p.e., gramíneas, cactos e bromélias) apresentaram redução na produção de flores e frutos, mas apenas em MeC esse efeito foi significativo ($P < 0,01$) (Tabela S2). A quantidade de solo teve efeito positivo na produção de flores e frutos somente em MeM ($P < 0,001$) (Tabela S2).

A partir das matrizes de transição de Lefkovitch (Tabela 2) evidenciamos diferenças demográficas nas populações, refletindo diferenças em seus meios abióticos e interações com polinizadores. Na região marginal (MeM) o crescimento mais lento levou ao aumento na frequência de *stasis*, que combinadas a menores taxas de sobrevivência e redução da fecundidade resultou em menor taxa de crescimento populacional (ou menor aptidão relativa), em relação a população central MeC ($\lambda_{MeM} / \lambda_{MeC} = 0,948$). Na população MbC o crescimento mais rápido levou a menor *stasis* que, combinado a maior fecundidade, resultou maiores valores de λ em relação a MeC ($\lambda_{MeM} / \lambda_{MeC} = 0,959$) e de maneira mais acentuada com MeM ($\lambda_{MeM} / \lambda_{MeC} = 0,909$). Não houve diferença significativa entre as estruturas populacionais observadas ($S = 0,84$; $J1 = 0,05$; $J2 = 0,03$; $A = 0,07$) e as estruturas estáveis médias ($S = 0,90$; $J1 = 0,04$; $J2 = 0,02$; $A = 0,05$) geradas por aleatorização das matrizes de MeC, MeM e MbC ($G = 7,196$; $gl = 3$; $P = 0,066$).

Em todas as populações os valores mais elevados das elasticidades foram associados a adultos reprodutivos (Tabela 2), o que ressalta a sensibilidade dessas populações ao extrativismo deste estágio de desenvolvimento (Fig. 2). Taxas de extração anual acima de 10% de adultos

poderiam causar rápido declínio populacional (Fig. 2b). Entretanto, uma taxa de extrativismo de 10% de adultos não seria prejudicial, caso as coletas ocorressem a cada dois anos ou mais (Fig. 2a). A redução das fecundidades em 87%, simulando a ausência de polinização cruzada, levou à redução dos valores em λ_c (6,03%), λ_m (13,01%) e λ_{cm} (11,98%), o que torna evidente a importância dos polinizadores na produção de sementes.

Com base nas contribuições dos elementos das matrizes para os valores de lambda, decompostos no espaço (LTRE, Tabela S3), revelamos que o somatório das contribuições associadas aos elementos da matriz C da população marginal MeM foi negativo ($\Sigma a_{ij} = -0,022$), valor próximo da diferença da taxa de crescimento média ($\lambda_{Médio} - \lambda_{MeM} = -0,021$). Por outro lado, a população MeC contribuiu positivamente para as diferenças espaciais em lambda ($\Sigma a_{ij} = 0,031$; $\lambda_{Médio} - \lambda_{MeC} = 0,028$), enquanto a população MbC contribuiu cerca de três vezes para a diferença ($\Sigma a_{ij} = 0,085$; $\lambda_{Médio} - \lambda_{MbC} = 0,096$). A partir da análise temporal, conseguimos observar o impacto da variação do volume de chuvas entre os anos no comportamento demográfico das três populações (Tabela S3). Em MeC, a interação população *versus* ano indicou os efeitos positivos da *stasis* no primeiro ano ($\Sigma a_{ij} = 0,071$), e da fecundidade no segundo ano ($\Sigma a_{ij} = 0,018$), sobre o crescimento populacional. Em MeM, a interação indicou maior flutuação nas contribuições entre o primeiro ($\Sigma a_{ij} = 0,044$) e segundo ano ($\Sigma a_{ij} = -0,031$), e foram devidas principalmente à *stasis* ($\Sigma a_{ij} = 0,027$) e crescimento ($\Sigma a_{ij} = 0,058$). Na população MbC, os valores de lambda foram influenciados positivamente pela maior *stasis* ($\Sigma a_{ij} \approx 0,031$) e crescimento ($\Sigma a_{ij} \approx 0,017$) nos dois anos, e negativamente no segundo ano, devido à redução da fecundidade ($\Sigma a_{ij} = -0,017$) (Tabela S3).

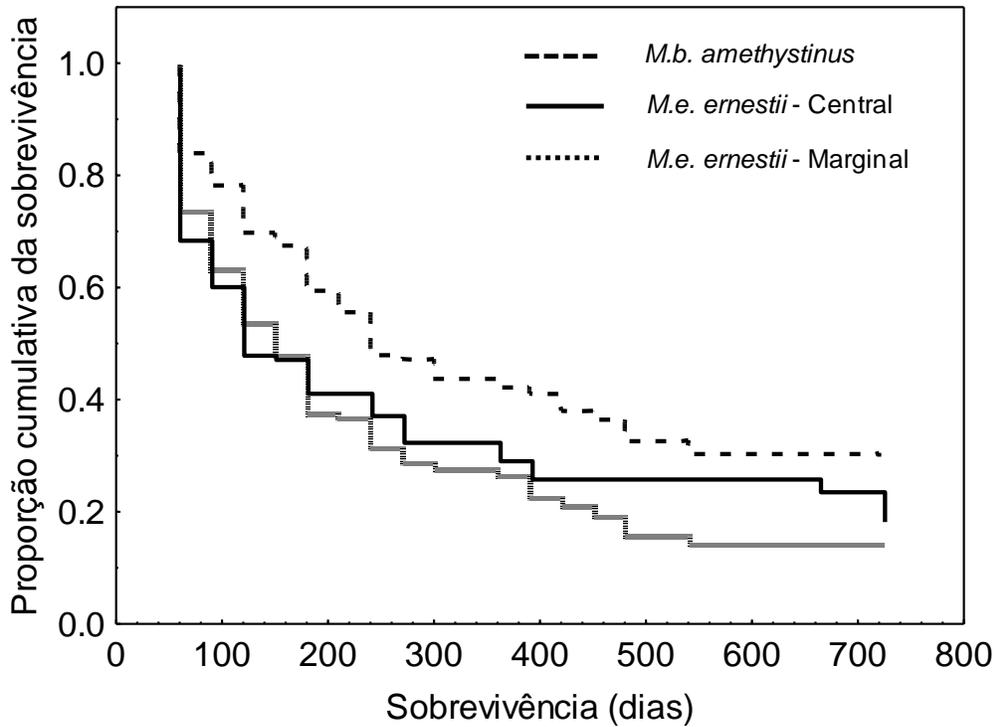


Figura 1 Curvas de sobrevivência das plântulas das populações marginal e central de *Melocactus ernestii* subsp. *ernestii*, e central de *M. bahiensis* subsp. *amethystinus*, geradas pelo método Kaplan-Meier product-limit. As curvas compreendem 12 coortes observadas em censos a cada dois meses em uma parcela de 10 x 10 m².

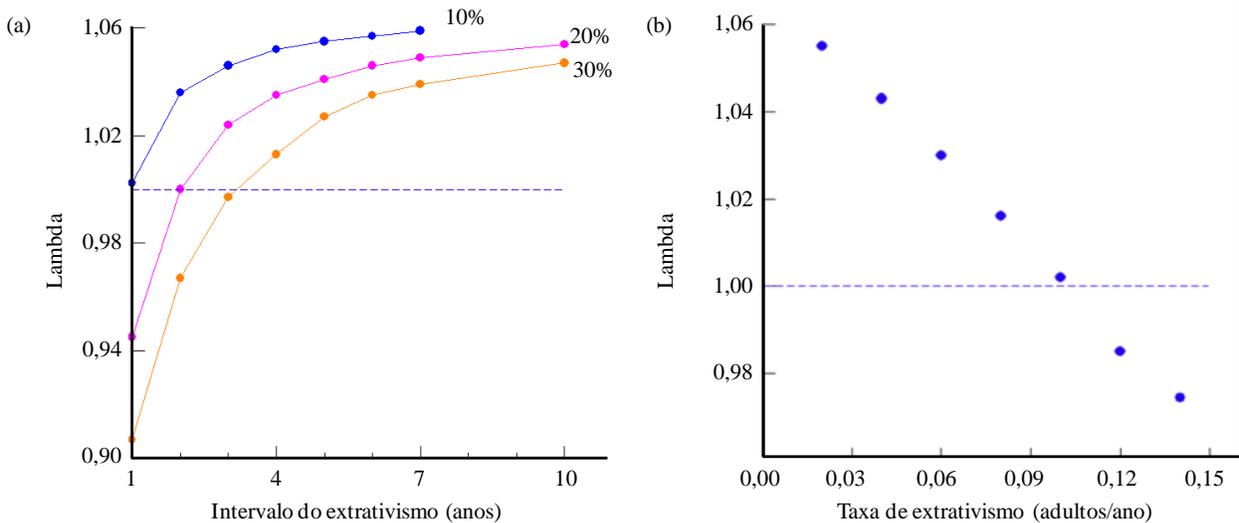


Figura 2. Efeito do extrativismo de cactos adultos na taxa finita de crescimento populacional (lambda, λ) de *Melocactus ernestii*. (a): 10, 20 e 30% de extrativismo em diferentes intervalos de tempo. (b): variação anual da taxa de extração.

Tabela 1. Produção de flores e frutos, microhabitat e tamanho de 123 indivíduos adultos das populações central e marginal de *Melocactus ernestii* e central de *M. bahiensis*. Letras sobrescritas diferentes denotam populações significativamente diferentes a partir do teste múltiplo *post hoc* de Student-Newman-Keuls ($P < 0,05$). Valores de precipitação obtidos de Hijmans et al. (2005).

	<i>Melocactus ernestii</i>		<i>M. bahiensis</i>
	Marginal (n=41)	Central (n=41)	Central (n=41)
Precipitação	895 mm	662 mm	895 mm
Flores 1° ano	826 ^b	684 ^b	427 ^a
Frutos 1° ano	317 ^a	515 ^b	302 ^a
Flores 2° ano	461 ^{ab}	483 ^b	352 ^a
Frutos 2° ano	313 ^a	316 ^a	265 ^a
Fruto: flor	0.49 ^a	0.71 ^b	0.73 ^b
Intensidade de floração	0,270 ± 0,133 ^a	0,283 ± 0,068 ^a	0,237 ± 0,010 ^a
Intensidade de frutificação	0,194 ± 0,104 ^a	0,232 ± 0,074 ^b	0,184 ± 0,079 ^a
% solo	37,09 ± 19,30 ^b	24,44 ± 17,48 ^a	43,20 ± 22,47 ^b
% rocha	52,31 ± 22,44 ^a	49,63 ± 25,66 ^a	39,95 ± 17,87 ^a
% fitomassa	10,59 ± 11,51 ^a	21,56 ± 19,83 ^b	16,85 ± 15,06 ^b
Largura do cladódio	159,77 ± 40,01 ^a	175,12 ± 25,26 ^b	151,16 ± 11,16 ^a
Altura do cladódio	107,80 ± 29,29 ^a	142,32 ± 28,22 ^b	97,61 ± 18,17 ^a
Largura do cefálio	78,59 ± 30,87 ^a	82,20 ± 9,22 ^b	78,76 ± 12,31 ^{ab}
Altura do cefálio	60,55 ± 33,00 ^b	68,17 ± 32,05 ^c	35,78 ± 12,22 ^a

Tabela 2. Matrizes de transição das populações central e marginal de *Melocactus ernestii* e *M. bahiensis* e suas respectivas matrizes de elasticidade por ano e localidade. Os elementos matriciais que representam o estasis e a fecundidade estão em negrito e italizados, respectivamente. Os maiores valores na matriz de elasticidades estão em negrito.

<i>Melocactus ernestii</i> subsp. <i>ernestii</i>						<i>M. bahiensis</i> subsp. <i>amethystinus</i>											
Nova Itarana - BA (Central)			Itaobim - MG (Marginal)			Itaobim - MG (Central)											
2007-2008		2011-2012				2011-2012											
S	J1	J2	A	<i>ni</i>	S	J1	J2	A	<i>ni</i>	S	J1	J2	A	<i>ni</i>			
S	0,500	0,111		6,933	104	S	0,493		9,125	73	S	0,659		16,700	334		
J1	0,029	0,667			9	J1	0,014	0,571		7	J1	0,018	0,700		21		
J2		0,222	0,833		6	J2		0,429	0,800	5	J2		0,300	0,167	6		
A			0,167	1,000	15	A			0,200	0,959	8	A		0,833	0,984		
w	0,829	0,055	0,045	0,071		w	0,883	0,024	0,036	0,057		w	0,924	0,035	0,010	0,032	
v	1	20,870	40,630	66,140		v	1	42,300	50,702	72,302		v	1	28,723	51,172	65,628	
Matriz de elasticidades						Matriz de elasticidades						Matriz de elasticidades					
S	0,044	0,001		0,053		S	0,05			0,061		S	0,110			0,096	
J1	0,053	0,081				J1	0,06	0,068				J1	0,096	0,125			
J2		0,053	0,161			J2		0,061	0,172			J2		0,096	0,015		
A			0,053	0,502		A			0,061	0,465		A			0,096	0,368	
2008-2009		2012-2013				2012-2013											
S	J1	J2	A	<i>ni</i>	S	J1	J2	A	<i>ni</i>	S	J1	J2	A	<i>ni</i>			
S	0,630	0,125		11,000	165	S	0,179		6,700	67	S	0,465		12,000	288		
J1	0,012	0,625	0,111		8	J1	0,015	0,600		5	J1	0,017	0,588		17		
J2		0,250	0,556		9	J2		0,400	0,600	5	J2		0,412	0,500	8		
A			0,333	0,964	15	A			0,400	0,882	10	A		0,500	0,954		
w	0,922	0,027	0,013	0,037		w	0,835	0,031	0,031	0,103		w	0,903	0,028	0,018	0,050	
v	1	37,541	67,898	94,429		v	1	54,901	55,246	55,594		v	1	39,399	52,287	66,381	
Matriz de elasticidades						Matriz de elasticidades						Matriz de elasticidades					
S	0,084			0,060		S	0,015			0,069		S	0,059			0,084	
J1	0,060	0,094	0,008			J1	0,069	0,103				J1	0,084	0,091			
J2		0,068	0,072			J2		0,069	0,103			J2		0,084	0,067		
A			0,06	0,495		A			0,069	0,504		A			0,084	0,446	

S = plântulas ($0 < S \leq 50$); J1 = juvenis pequenos ($50 < J1 \leq 100$); J2 = juvenis grandes ($J2 \geq 100$ mm); e A = adultos (com cefálio); w representa as estruturas estáveis e v os valores reprodutivos específicos em cada classe de tamanho. Valores na diagonal principal indicam a probabilidade de estasis, valores abaixo representam crescimento, e acima indicam regressão. *ni* é o número de indivíduos em cada classe de tamanho.

Discussão

A partir dos nossos resultados mostramos uma variação significativa no desempenho individual entre as populações central e marginal de *Melocactus ernestii* e central de *M. bahiensis*. Nesse caso, a população marginal de *M. ernestii* teve uma razão fruto:flor 30% menor e redução de aproximadamente três vezes no número de sementes por fruto em relação ao par central MeC. Aparentemente, essa redução na frutificação e produção de sementes não resultou da limitação da polinização por beija-flores (*Eupetomena macroura*; *Chlorostilbon lucidus*), presente todos os meses do ano nas três populações (obs. pess.). Também mostramos o efeito da precipitação e dos preditores do microhabitat (quantidade de solo e fitomassa) que contribuíram de forma independente na produção de flores e frutos nas populações. Em afloramentos rochosos as espécies vegetais são edaficamente controladas (Porembski & Barthlott 2000). Este controle foi mais pronunciado em MeM onde uma planta em um microhabitat com maior quantidade de solo aumenta a sua produção de flores e frutos. Curiosamente, não verificamos esse efeito em MeC, com plantas influenciadas negativamente pela maior quantidade de fitomassa associada. Nesse caso, a associação com outras espécies (p.e., gramíneas e bromelióides) na mesma ilha pode tornar a água disponível ainda mais efêmera, determinando um maior sucesso reprodutivo de plantas em habitats mais isolados. Além disso, as plantas em MeC são maiores o que pode ser reflexo das menores quantidades de chuva na região central (i.e. 5 a 6 meses de seca da região; Velloso et al. 2002) selecionando indivíduos capazes de armazenar mais água (Mauseth 2000) para compensar os longos períodos de seca.

Como esperávamos, o comportamento demográfico das populações de *Melocactus* foi variável em função das oscilações climáticas e da localização geográfica (marginal e central). Populações próximas dos seus limites fisiológicos são mais vulneráveis aos eventos estocásticos do que populações em ambientes mais estáveis climaticamente (Pulliam 2000;

Giménez-Benavides et al. 2011). Na população marginal MeM, por exemplo, a redução da fecundidade, e aumento da mortalidade de plântulas e adultos foi mais pronunciada nos anos com menor precipitação. A maioria das plântulas não sobreviveram ao primeiro ano de vida, como reportado para a maioria das espécies estudadas de cactos, como, em *Mammillaria crucigera* (Contreras & Valverde 2002), *M. gaumeri* (Ferrer-Cervantes et al. 2012), *Echinocactus horizonthalonius* (McIntosh et al. 2011) e *Melocactus ernestii* (Hughes et al. 2011). Entretanto, as curvas de sobrevivência de plântulas nas populações MeC e MeM, ao final de dois anos, não diferiram entre si, refletindo o efeito da precipitação muito abaixo da média em MeC (32 mm; transição, 2008-2009).

Alguns mecanismos podem explicar este comportamento da curva de sobrevivência de plântulas nas populações estudadas de *Melocactus*. Primeiro, plântulas de cactos em áreas abertas e expostas à radiação intensa podem apresentar baixa eficiência no uso da água devido ao metabolismo C_3 neste estágio, resultando em elevada taxa de mortalidade por seca (Godínez-Álvarez et al. 2003). Por outro lado, essa flexibilidade no sistema CAM pode proporcionar a colonização de ambientes com múltiplos fatores de estresses ambientais como é o caso dos afloramentos rochosos (Lüttge 2004). Segundo, plântulas de *Melocactus* possuem elevada relação superfície:volume (S/V) devido ao seu tamanho muito pequeno ($\approx 1,90$ mm de largura) e número de costelas reduzidas e baixas (Mauseth 2000). Esta elevada relação S/V implica no aumento da radiação fotossinteticamente ativa e da transpiração, restringindo o estabelecimento a ambientes méxicos (Mauseth 2000). Nas populações MeC, MeM e MbC, o estabelecimento ocorre preferencialmente em períodos com pulsos de precipitação mais frequentes, e próximo a adultos coespecíficos, cavidades e fissuras em rochas. Este padrão de recrutamento também foi observado em outras espécies de cactos rupícolas (Munguía-Rosas & Sosa 2008; Capítulo 1). Terceiro, sementes de espécies de cactos de ambientes com irregularidade de chuvas podem germinar rapidamente na primeira semana após contato com

o substrato úmido ou desenvolver dormência fisiológica em ambientes efêmeros (Rojas-Aréchiga & Vázquez-Yanes 2000). Substâncias endógenas inibidoras de germinação têm sido detectado em testas de sementes de *Melocactus curvispinus* (Arias & Lemus 1984), sugerindo que a germinação seja fortemente influenciada pelas condições ambientais (Jurado & Flores 2005). Assim, a relação entre período do recrutamento e a irregularidade das chuvas, experimentada pelas populações de *Melocactus rupícolas*, pode influenciar na sobrevivência das plântulas (Hughes et al. 2011; Capítulo 1) No geral, os mecanismos de dormência (Dubrovsky 1996; Jurado & Flores 2005) e a elevada superfície relativa das plântulas de *Melocactus* constituem fatores seletivos importantes em ambientes com chuvas distribuídas irregularmente e microsítios com qualidade flutuante, como superfícies rochosas expostas, aumentando as chances de colonização e persistência em fissuras nas rochas e depressões que acumulam solo.

Estudos prévios têm reportado que cactos apresentam crescimento lento e podem ser longevos. Por exemplo, a espécie colunar *Carnegiea gigantea* levou cerca de 33 anos para atingir a fase reprodutiva (~200 cm de altura; Steenbergh & Lowe 1977, *apud* Drezner 2003) e *Neobuxbaumia macrocephala* mais de 90 anos (~300 cm de altura; Esparza-Olguín et al. 2002), enquanto que a espécie globosa *E. horizonthalonius* levou cerca de 10 anos (~8 cm de largura; McIntosh et al. 2011). A partir dos nossos resultados, os indivíduos nas populações de *Melocactus ernestii* e *M. bahiensis* levam cerca de 30 anos para atingir a fase reprodutiva (cerca de 14 cm de largura). Além disso, a população central de *M. ernestii* experimenta maior velocidade de crescimento vegetativo que a marginal MeM, ao passo que MbC alcançou a fase adulta mais rapidamente que MeC e MeM. Essas diferenças no crescimento entre as populações explicam, em parte, a incidência mais acentuada de mortalidade das plântulas ($0,1 \text{ cm} < S \leq 5,0 \text{ cm}$) nas populações MeC e MeM, uma vez que indivíduos com taxas anuais de crescimento mais rápidas podem rapidamente inverter sua relação S/V, proporcionando maior

capacidade de armazenamento de água e com isso sua resistência a secas mais prolongadas (Mauseth 2000; Rojas-Sandoval & Meléndez-Ackerman 2012).

O entendimento sobre a dinâmica populacional de espécies de vida longa é limitado a estudos de curta duração (Crone et al. 2011), como foi o caso do estudo dos *Melocactus*. No entanto, os modelos matriciais obtidos sumarizaram os efeitos das diferentes condições ambientais locais, e entre anos, nas dinâmicas populacionais. A partir dos nossos resultados, sugerimos que as populações central e marginal de *M. ernestii* e central de *M. bahiensis* não estão em declínio, mas que poderiam declinar rapidamente sob o efeito do extrativismo de adultos reprodutivos, cujas sobrevivências estão associadas a elevadas elasticidades. Este comportamento demográfico é comum para a maioria das espécies de cactos em sistemas áridos e semi-áridos. Por exemplo, das 80 matrizes de transições que representam 22 espécies de cactos estudadas até o momento, 74 indicaram maior elasticidade para sobrevivência de adultos (p.e., Godínez-Álvarez et al. 2003; Jiménez-Sierra et al. 2007; Martínez et al. 2010; Zepeda-Martínez et al. 2013). Este resultado é consistente com o que se observa em outros ecossistemas com elevada variação climática interanual, nos quais a sobrevivência de adultos cujas longevidades são elevadas, permitem a persistência e crescimento populacional decorrentes de episódios de recrutamento eventuais (p.e., Gotelli 1991; Giménez-Benavides et al. 2011), como previsto pela teoria da história de vida (Grime 2001).

A seca foi a única causa de morte observada na fase adulta, sendo mais frequente no segundo ano em todas as populações, quando os níveis de precipitação foram abaixo da média, e mais acentuadamente na população marginal. No segundo ano, houve também redução na produção de flores e frutos. Esses efeitos demográficos da seca ficaram evidentes nas análises LTRE. Outra característica importante no comportamento demográfico refere-se à maior importância da estasis nas populações MeC e MeM, e do crescimento na população MbC. Em função dessas características, as tendências populacionais de plantas de vida longa

nos limites de distribuição não podem ser deduzidas unicamente pelas taxas de recrutamento atuais, pois são mais determinadas pela mortalidade e pela longevidade de indivíduos adultos (p.e., García & Zamora 2003; Giménez-Benavides et al. 2011).

Com base nas simulações de extrativismo e ausência de polinizadores mostramos a sensibilidade destas populações de *Melocactus* à retirada de adultos e redução da fecundidade, bem como o possível impacto da perda de polinizadores ocasionada pelo desmatamento. Estes cenários são preocupantes, devido à forte pressão do extrativismo, principalmente de plantas adultas, e da supressão de áreas nativas do ecossistema Caatinga (Zappi et al. 2010; PAN 2010), o terceiro mais alterado do Brasil (Myers et al. 2000). Além disso, a redução da precipitação em cerca de 30% prevista para a região leste do Brasil nos próximos 40 anos, que compreende toda a área de drenagem da bacia do rio São Francisco, e aumento de sua imprevisibilidade, ligadas às rápidas mudanças climáticas globais (Marengo et al. 2012; IPCC 2007), podem representar um risco a mais para as populações de *Melocactus*, pois afetariam negativamente a reprodução e a sobrevivência de plântulas e adultos. Uma vez que as plântulas levam cerca de 30 anos para atingir a fase reprodutiva, haverá um atraso considerável na resposta adaptativa, principalmente em populações nos limites de distribuição.

A partir deste estudo, demonstramos que populações central e marginal de *Melocactus ernestii* e central de *M. bahiensis* diferem em suas taxas vitais que são responsáveis pelas diferenças espaciais e temporais observadas nas taxas de seus crescimentos populacionais. O comportamento demográfico das populações estudadas é fortemente dependente da manutenção de adultos, que contrabalançam a elevada mortalidade nos estádios iniciais de desenvolvimento, possibilitando sua persistência. Essas plantas apresentam elevada especificidade de habitat e as populações são sensíveis ao extrativismo de adultos, o que pode levar a extinções locais. Neste contexto, estratégias de conservação e manejo devem ser

baseadas no entendimento da dinâmica populacional e do funcionamento da cadeia produtiva local que envolve o comércio de cactos, com a criação de cooperativas e capacitação de mão de obra local, eliminando a necessidade de remoção de espécimes em populações naturais. No Brasil, há poucos estudos envolvendo dinâmica de populações de cactáceas, e a falta de informações cria lacunas para o planejamento de reservas e áreas de conservação.

Agradecimentos

A Nigel P. Taylor por confirmar a identificação das espécies. Este trabalho recebeu suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - 476337/2010-0). FMH recebeu bolsa de doutorado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). E.L.B. e C.M.J. agradecem a bolsa de produtividade em pesquisa do CNPq.

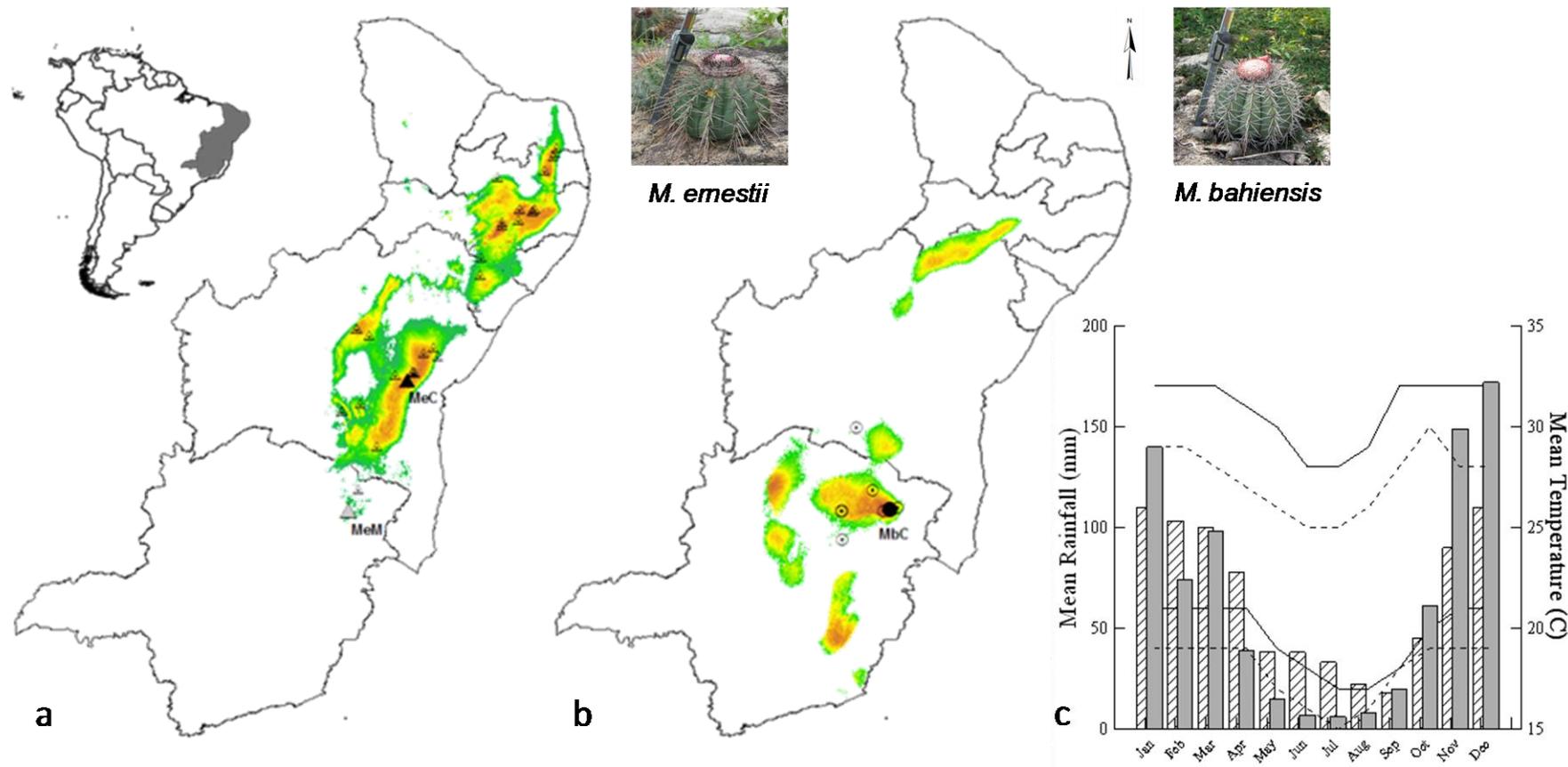


Figura Suplementar 1. Localização das populações estudadas de *Melocactus ernestii* (a) e *M. bahiensis* (b), e distribuição potencial a partir da interpolação de 10 variáveis bioclimáticas e registros de ocorrência com o MaxEnt v.3.3.3a (Capítulo 3). Valores de adequabilidade ambiental estimados para as populações estudadas foram: MbC, 85%; MeC, 80% e MeM, 23%. Médias plurianuais (1960 – 2000) para os valores mensais de precipitação e temperaturas máximas e mínimas (c): MeC – barras brancas e linhas contínuas, MeM e MbC – barras cinzas e linhas tracejadas. Indivíduos das espécies fotografados *in situ* são apresentados.

Tabela S1. Coeficientes de regressão para as curvas de crescimento das populações de *Melocactus*. MeC foi utilizada como fator de referência do crescimento em função da largura, ajustado para 1,0. Na comparação MeM e MbC, MeM foi o fator de referência. *B* = coeficientes não estandardizados. Em negrito a significância estatística das equações e sumário dos modelos.

Variable	<i>B</i>	Std. Error	t	<i>P</i>	R	R ²	Durbin- Watson
MeC-MeM				7,4 x 10⁻⁴¹	0,726	0,527	1,545
(Constant)	1,8031	0,2191	8,2283	9,4 x 10 ⁻¹⁵			
(Log(largura)) ²	2,6885	0,4847	5,5463	7,2 x 10 ⁻⁸			
dummy	-0,2402	0,0439	-5,4657	1,1 x 10 ⁻⁷			
Log(largura)	-3,0561	0,5683	-5,3781	1,7 x 10 ⁻⁷			
(Log(largura)) ³	-0,6080	0,1225	-4,9638	1,3 x 10 ⁻⁶			
MeC-MbC				4,4 x 10⁻⁸⁴	0,828	0,685	1,507
(Constant)	2,8596	0,2327	12,2868	5,1 x 10 ⁻²⁹			
(Log(largura)) ²	5,4484	0,4788	11,3793	1,1 x 10 ⁻²⁵			
dummy	0,2097	0,0261	8,0289	1,6 x 10 ⁻¹⁴			
(Log(largura)) ⁷	0,0183	0,0022	8,2702	3,0 x 10 ⁻¹⁵			
Log(largura)	-7,3325	0,6583	-11,1389	8,2 x 10 ⁻²⁵			
(Log(largura)) ⁴	-0,7085	0,0710	-9,9827	8,9 x 10 ⁻²¹			
MeM-MbC				9,6 x 10⁻⁸⁰	0,835	0,697	1,416
(Constant)	0,1611	0,0474	3,4016	0,0008			
(Log(largura)) ¹⁰	-0,0005	0,0000	-10,8113	2,6x10 ⁻²³			
(Log(largura)) ²	0,3769	0,0209	18,0741	2,5x10 ⁻⁵⁰			
dummy	0,1191	0,0326	3,6572	0,0003			

Tabela S2. Coeficientes de regressão linear entre as variáveis tamanho ou microhabitat e produção de flores e frutos das populações de *Melocactus*. *B* = coeficientes não estandardizados. Em negrito a significância estatística das equações e sumário dos modelos. Valores de Durbin-Watson ($1,40 < D < 1,80$) indicaram resíduos não correlacionados para todos os modelos.

	R	R ²	Erro padrão	F	p-valor	B	Constante
<i>Melocactus ernestii</i> subsp. <i>ernestii</i> (Central)							
<i>Produção de Flores</i>							
% solo	0,176	0,031	3,282	1,053	0,3120	-5,506	20,856
% rocha	0,503	0,253	2,212	9,490	0,0050	2,805	17,924
% fitomassa	0,474	0,225	2,650	6,966	0,0140	-13,008	27,602
Largura cladódio	0,144	0,021	3,300	0,695	0,4100	18,361	-25,946
Altura cladódio	0,058	0,003	3,329	0,110	0,7430	0,013	18,408
Largura cefálio	0,097	0,009	3,318	0,315	0,5780	-0,145	24,158
Altura cefálio	0,045	0,002	3,331	0,066	0,7980	0,105	19,010
<i>Produção de Frutos</i>							
% solo	0,239	0,057	3,867	2,005	0,1660	-8,955	16,478
% rocha	0,601	0,362	3,073	17,574	0,0001	5,109	10,842
% fitomassa	0,692	0,479	1,968	22,055	0,0001	-17,185	25,005
Largura cladódio	0,212	0,045	3,893	1,550	0,2220	32,337	-65,807
Altura cladódio	0,035	0,001	3,981	0,041	0,8400	0,010	13,741
Largura cefálio	0,184	0,034	3,915	1,163	0,2890	-0,329	24,633
Altura cefálio	0,464	0,215	2,094	5,762	0,0260	-0,876	21,330
<i>Melocactus ernestii</i> subsp. <i>ernestii</i> (Marginal)							
<i>Produção de Flores</i>							
% solo	0,472	0,222	6,158	9,440	0,0040	28,152	16,175
% rocha	0,604	0,365	5,376	18,373	0,0001	-10,311	32,484
% fitomassa	0,038	0,001	7,966	0,055	0,8160	-3,497	24,194
Largura cladódio	0,403	0,162	7,180	6,981	0,0120	130,986	-300,867
Altura cladódio	0,035	0,001	7,967	0,046	0,8310	-0,033	24,822
Largura cefálio	0,283	0,080	7,647	3,210	0,0810	0,595	6,056
Altura cefálio	0,084	0,007	7,944	0,261	0,6130	-0,601	26,384
<i>Produção de Frutos</i>							
% solo	0,594	0,353	3,561	17,976	0,0001	22,461	6,696
% rocha	0,531	0,282	4,044	12,584	0,0010	-6,420	18,508
% fitomassa	0,102	0,010	4,879	0,390	0,5360	-5,725	15,034
Largura cladódio	0,535	0,289	3,893	14,430	0,0010	102,107	-240,060
Altura cladódio	0,131	0,017	4,862	0,648	0,4260	-0,075	17,698
Largura cefálio	0,083	0,007	4,888	0,254	0,6180	0,107	8,981
Altura cefálio	0,205	0,042	4,800	1,625	0,2100	0,907	5,698

Tabela S2. Continuação ...

	R	R ²	Erro padrão	F	p-valor	B	Constante
<i>Melocactus bahiensis</i> subsp. <i>amethystinus</i> (Central)							
<i>Produção de Flores</i>							
% solo	0,129	0,017	5,775	0,623	0,4350	6,547	11,818
% rocha	0,025	0,001	5,822	0,023	0,8810	-0,489	14,078
% fitomassa	0,158	0,025	5,751	0,943	0,3380	-9,878	19,507
Largura cladódio	0,664	0,440	4,266	23,617	0,0001	253,675	-610,952
Altura cladódio	0,346	0,120	5,113	3,127	0,0900	0,249	-3,206
Largura cefálio	0,319	0,101	5,521	4,178	0,0480	0,499	-0,586
Altura cefálio	0,142	0,020	5,765	0,758	0,3900	0,809	9,104
<i>Produção de Frutos</i>							
% solo	0,047	0,002	3,809	0,082	0,7760	1,565	9,934
% rocha	0,059	0,003	3,806	0,129	0,7210	0,761	9,801
% fitomassa	0,084	0,007	3,799	0,263	0,6110	-3,449	12,411
Largura cladódio	0,301	0,090	3,636	3,678	0,0630	81,287	-189,785
Altura cladódio	0,188	0,035	3,826	0,845	0,3670	0,097	4,377
Largura cefálio	0,122	0,015	3,784	0,563	0,4580	0,125	6,790
Altura cefálio	0,022	0,000	3,812	0,018	0,8950	0,081	9,921

Tabela S3. Matrizes de contribuições relativas de cada elemento da matriz de transição (a_{ij}) na variação em λ . nas populações central e marginal de *Melocactus ernestii* subsp. *ernestii* e população central de *M. bahiensis* subsp. *amethystinus*, obtidos pela life table response experiment (LTRE), com efeitos de interações entre populações e entre os anos em λ . Soma das contribuições em λ dos processos demográficos (DP: R – retrogressão, E – estasis, G – crescimento, F – fecundidade).

Matrizes de Contribuição (C)														
<i>Efeito populacional</i>														
<i>M.e. ernestii</i> Central					<i>M.e. ernestii</i> Marginal					<i>M.b. amethystinus</i> Central				
	S	J1	J2	A		S	J1	J2	A		S	J1	J2	A
S	0,010	0,000	0,000	-0,010	S	-0,018	0,000	0,000	-0,016	S	0,010	0,000	0,000	0,023
J1	0,012	0,003	0,002	0,000	J1	-0,012	-0,004	-0,001	0,000	J1	0,000	0,002	-0,001	0,000
J2	0,000	-0,012	0,016	0,000	J2	0,000	0,029	0,022	0,000	J2	0,000	0,014	-0,023	0,000
A	0,000	0,000	-0,015	0,024	A	0,000	0,000	-0,008	-0,015	A	0,000	0,000	0,069	-0,010
DP	R	E	G	F	DP	R	E	G	F	DP	R	E	G	F
$\sum a_{ij}$	0,003	0,054	-0,015	-0,010	$\sum a_{ij}$	-0,001	-0,015	0,010	-0,016	$\sum a_{ij}$	-0,001	-0,021	0,083	0,023
<i>População vs 1° ano</i>														
		J1	J2	A		S	J1	J2	A		S	J1	J2	A
S	0,005	0,000	0,000	-0,010	S	0,004	0,000	0,000	0,005	S	0,017	0,000	0,000	0,016
J1	0,039	0,008	-0,001	0,000	J1	-0,011	-0,005	-0,001	0,000	J1	0,006	0,016	0,000	0,000
J2	0,000	-0,010	0,028	0,000	J2	0,000	0,034	0,024	0,000	J2	0,000	-0,013	-0,014	0,000
A	0,000	0,000	-0,017	0,030	A	0,000	0,000	-0,010	0,004	A	0,000	0,000	0,037	0,028
DP	R	E	G	F	DP	R	E	G	F	DP	R	E	G	F
$\sum a_{ij}$	-0,001	0,071	0,012	-0,010	$\sum a_{ij}$	-0,001	0,027	0,014	0,005	$\sum a_{ij}$	0,000	0,047	0,030	0,016
<i>População vs 2° ano</i>														
	S	J1	J2	A		S	J1	J2	A		S	J1	J2	A
S	0,018	0,000	0,000	0,018	S	-0,025	0,000	0,000	-0,012	S	-0,018	0,000	0,000	-0,017
J1	-0,016	0,003	0,008	0,000	J1	-0,007	-0,001	-0,001	0,000	J1	0,002	-0,007	0,000	0,000
J2	0,000	-0,004	-0,011	0,000	J2	0,000	0,028	-0,004	0,000	J2	0,000	0,021	0,027	0,000
A	0,000	0,000	0,022	0,007	A	0,000	0,000	0,037	-0,045	A	0,000	0,000	-0,019	0,013
DP	R	E	G	F	DP	R	E	G	F	DP	R	E	G	F
$\sum a_{ij}$	0,009	0,016	0,001	0,018	$\sum a_{ij}$	-0,001	-0,076	0,058	-0,012	$\sum a_{ij}$	0,000	0,015	0,004	-0,017

3

**Espécies do complexo *Melocactus oreas* (Cactaceae),
endêmicas do leste brasileiro, divergem ambientalmente?
Inferências para modelos especiativos**

Espécies do complexo *Melocactus oreas* (Cactaceae), endêmicas do leste brasileiro, divergem ambientalmente? Inferências para modelos especiativos

Frederic Mendes Hughes · Claudia Maria Jacobi

Departamento de Biologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais 31270-901, Brasil

e-mail: fredericmhughes@gmail.com

Eduardo Leite Borba

Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Santo André, São Paulo 09210-170, Brasil

Abstract

O objetivo deste artigo é avaliar se a divergência ecológica em alopatria é o modo de especiação que descreve a distribuição geográfica atual dos táxons do complexo *M. oreas*. O complexo *M. oreas* é endêmico do nordeste do Brasil e ocorre em afloramentos rochosos distribuídos em uma matriz de floresta tropical seca. A estratificação climática e topográfica regional, bem como a distribuição em manchas, poderia ter direcionado eventos especiativos dos táxons que constituem o complexo *M. oreas*. A partir da comparação entre modelos de nicho ecológico, análises multivariadas e métricas de identidade e similaridade de nicho, encontramos que os táxons simpátricos não coespecíficos possuem menor divergência ambiental do que táxons alopátricos coespecíficos, e exibem concordância com a distribuição geográfica conhecida. A baixa similaridade entre os SDMs dos pares coespecíficos reforça o status taxonômico atual do complexo *M. oreas*. Interpretando a distribuição geográfica e a divergência ecológica, sugerimos que a divergência de nicho pode ter sido o modelo especiativo prevalente no complexo *M. oreas*. No entanto, mesmo o grau de intercambialidade ecológica sendo utilizado como um caracter taxonômico decisivo entre espécies estreitamente relacionadas, outros critérios taxonômicos (p.e. variação clinal de caracteres morfológicos e estruturação filogeográfica) devem ser integrados para compor linhas múltiplas de evidência.

Palavras-chave: Alopatria, cactos globosos, floresta tropical seca, Maxent, modelo de nicho ecológico

Introdução

Espécies frequentemente estão adaptadas a áreas geográficas limitadas por discontinuidades topográficas na paisagem, e estas espécies também podem ser pontos arbitrários dentro de gradientes contínuos de fatores ambientais que permitem uma taxa positiva de crescimento intrínseco (Hutchinson 1957; Janzen 1967; Kirkpatrick & Barton 1997; Soberón 2010). Essa discontinuidade ambiental e topográfica têm sido utilizada para explicar os padrões de riqueza e co-existência pois, filtram as capacidades dispersivas e competitivas de espécies adaptadas fisiologicamente a certas zonas climáticas (p.e., terras áridas ou com elevada precipitação) (Jackson & Overpeck 2000; Wiens & Donoghue 2004; Peterson 2011).

Abordagens teóricas, empíricas e comparativas para estudar o nicho ecológico (p.e., Schluter 2009; Sexton et al. 2009), concordam que a heterogeneidade ambiental, associada com limitações intrínsecas, proporcionam eventos especiativos, e que tem sido explicada por dois modelos: i) conservadorismo de nicho (Wiens et al. 2010), em que as espécies retêm as características ecológicas evoluindo em alopatria, e ii) divergência de nicho (Schluter 2009), em que uma seleção natural divergente conduz ao isolamento reprodutivo e especiação ecológica. Esses dois modelos são complementares por tratarem de eventos temporais distintos do processo especiativo, por exemplo, espera-se que linhagens que evoluíram recentemente mostrem um padrão de conservadorismo de nicho (Kozak & Wiens 2010; Wiens et al. 2010).

Modelos de distribuição de espécies (SDMs), que interpolam registros de ocorrência com variáveis ambientais (Guisan & Zimmermann 2000; Phillips & Dudík 2008), são empregados como uma ferramenta efetiva para descrever a distribuição geográfica potencial e testar se espécies apresentam conservadorismo de nicho ou se são ecologicamente diferenciadas (p.e., Nakazato et al. 2010; McCormack et al. 2010; Peterson et al. 2011). A

intercambialidade ecológica dos nichos também é utilizada como critério operacional na delimitação de espécies conflitantes taxonomicamente, uma vez que adaptações ecológicas são consideradas como a primeira força direcionadora da diversificação morfológica e que podem levar à especiação (p.e., Rissler & Apodaca 2007; Schluter 2009; Sexton et al. 2014).

Pesquisas recentes têm combinado SDMs com modelos nulos associados a background ambiental e análises multivariadas, tanto para ampliar o entendimento sobre intercambialidade ecológica quanto para descrever quali- e quantitativamente as condições ambientais onde complexos de espécies são encontrados (p.e., Warren et al. 2010; McCormack et al. 2010). Com esse aperfeiçoamento metodológico é possível testar divergência de nicho contra um modelo nulo de conservadorismo do background ambiental no espaço multivariado, assumindo que as características dos nichos diferem entre espécies e que estas diferenças são maiores que a divergência observada no background ambiental (Leaché et al. 2009; McCormack et al. 2010; Nakazato et al. 2010).

A partir de análises quantitativas multivariadas e SDMs fortes evidências para divergência ou conservadorismo de nicho podem ser encontradas, o que representam passos importantes para a diagnose de espécies crípticas (Graham et al. 2004; Wiens & Graham 2005; Raxworthy et al. 2007). Neste estudo, exploramos SDMs e métricas de similaridade de nicho, para verificar se táxons simpátricos não coespecíficos do complexo *Melocactus oreas* possuem menor divergência ambiental do que táxons alopátricos coespecíficos (Taylor & Zappi 2004). Primeiramente, SDMs foram gerados com variáveis ambientais e registros de ocorrência para estimar o nicho climático de cada espécie. Em seguida, as variáveis empregadas na geração dos SDMs foram descritas quantitativamente e testadas quanto as suas variações intra- e interespecíficas. Posteriormente, testamos a hipótese de que os nichos diferem entre espécies e que estas diferenças são maiores que a divergência observada no background ambiental (Warren et al. 2008; McCormack et al. 2010). Finalmente, avaliamos

se a divergência ecológica em alopatria é o modo de especiação que descreve a distribuição geográfica atual dos táxons do complexo *M. oreas*.

Materiais e Métodos

Registros de ocorrência e dados ambientais

As espécies do complexo *M. oreas* estão distribuídas em afloramentos rochosos disjuntos no leste brasileiro (Fig. 1), um dos três principais centros de diversidade das cactáceas e do gênero *Melocactus* (Taylor & Zappi 2004). A área de ocorrência do complexo *M. oreas* é marcada por uma elevada variação climática atual (Velloso et al. 2002) e histórica (Clapperton 1993), associada a fatores altitudinais e latitudinais. A classificação do complexo *M. oreas* inclui quatro espécies e três pares subespecíficos: *M. conoideus*; *M. oreas* subsp. *oreas* e subsp. *cremnophilus*; *M. ernestii* subsp. *ernestii* e subsp. *longicarpus*; *M. bahiensis* subsp. *bahiensis* e subsp. *amethystinus*. A última espécie foi dividida em quatro espécies (Hunt et al. 2006): *M. inconcinnus*, *M. brederooianus*, *M. braunii* e *M. bahiensis*, sendo que a última permanece subdivida (*M. bahiensis* subsp. *bahiensis* e *M. bahiensis* subsp. *amethystinus*) e será abordada nesse estudo. A espécie *M. conoideus* não foi inserida nas análises por ser conhecida para uma única localidade. A nomenclatura dos táxons segue Taylor & Zappi (2004).

Registros de ocorrência do complexo *M. oreas* (n = 90) foram obtidos a partir de expedições a campo e registros disponíveis no portal SpeciesLink (<http://splink.cria.org.br>, acessado em 20-11-2013). Registros duplicados (i.e., aqueles com menos de 1 km de distância), dentro de áreas urbanizadas (visualizados no Google Earth) e espécime não identificado por especialista no gênero foram eliminados. Os dados ambientais para modelagem do nicho ambiental consistiu de 10 camadas bioclimáticas (correlação aos pares $r < 0,70$; Tabela S1; análise conduzida no software ENMTools v.1.4.3, Warren et al. 2008) a

partir da base de dados Worldclim (Hijmans et al. 2005): temperatura média anual (bio_1), temperatura média do trimestre mais quente (bio_10), temperatura média do trimestre mais frio (bio_11), precipitação anual (bio_12), precipitação do período mais seco (bio_14), precipitação do trimestre mais frio (bio_19), temperatura média da variação diurna (bio_2), isothermalidade (bio_3) e sazonalidade da temperatura (bio_4); e altitude.

Os valores das variáveis ambientais para os registros de ocorrência foram extraídos com ArcMap v. 10 (ESRI, Redland, CA). ANOVAs, após transformação Box-Cox das variáveis ambientais, foram utilizadas para verificar as diferenças entre as espécies e entre todos os pares subespecíficos. Comparações *post hoc* entre médias foram feitas utilizando o teste múltiplo Student–Newman–Keuls no software Statistica version 6.0 (StatSoft 2003).

SDM e teste de identidade e divergência de nicho

Utilizamos o MaxEnt versão 3.3.3a (Phillips & Dudík 2008) para construir modelos preditivos para os seis táxons infraespecíficos e para o complexo *M. oreas*. Maxent utiliza informações das covariáveis dos registros de ocorrência das espécies e pontos aleatorizados no recorte geográfico (conhecido como 'background'), para estimar a distribuição potencial de uma espécie, de maneira consistente com as informações observadas nos registros de ocorrência (ou seja, ele estima a distribuição de máxima entropia) (Phillips & Dudík 2008; Lahoz-Monfort et al. 2014).

Empregamos o limiar de convergência (10^{-5}) e 100 interações com 25% dos registros de ocorrência de cada táxon para treino do modelo, contrastando-os com 10^3 dados de pseudoausência amostrados no restante da área de estudo ('background') para teste de desempenho dos modelos. Os procedimentos acima mencionados também foram realizados por meio de validação cruzada ou jackknife (Pearson et al. 2007) devido ao baixo número de dados de presença de alguns táxons (n=9, ver Tabela S1). Nesse caso, o número de modelos

gerados foi igual ao de localidades de presença com o procedimento *leave-one-out* (Pearson et al. 2007). Como as distribuições observadas foram similares, indicando convergência nos dois procedimentos, apenas o primeiro será abordado nos resultados. Utilizamos a técnica da área sob a curva (AUC) para inferir a acurácia dos modelos (Jiménez-Valverde 2012). Empregamos limiar de mínima presença (LTP) como método de corte dos SDMs e a saída logística dos modelos foi transformada em um mapa binário (condições adequadas vs inadequadas).

O nível de sobreposição de nicho (i.e., teste de identidade de nicho) entre os táxons foi avaliado com a métrica de similaridade proporcional de duas distribuições de Schoener D (Schoener 1968) e identidade de nicho (estatística I , Warren et al. 2008) a partir de 100 aleatorizações ($\alpha = 0,01$), conduzidas aos pares entre todos os táxons do complexo *M. oreas*. Como o teste de identidade de nicho pode conter erro tipo I ou falso positivo (Peterson 2011), testamos a hipótese de que SDMs são mais similares (i.e., teste de similaridade de nicho) entre si do que o esperado pelo acaso utilizando o procedimento de aleatorização do background (Leaché et al. 2009; Nakazato et al. 2010; McIntyre 2012). O background foi representado pelo mapa binário de cada táxon após corte do LTP, para eliminar áreas potencialmente inacessíveis. Com a aleatorização do background foram geradas duas distribuições nulas com 100 aleatorizações por análise que são comparadas com os valores observados de sobreposição de nicho (D Schoener e I de Warren). Adicionalmente, medidas de correlação foram empregadas para detectar níveis de associação dos valores de adequabilidade entre SDMs. Todas as análises foram conduzidas no software ENMTools.

Análises de divergência de nicho também foram realizadas no espaço multivariado a partir dos valores das 10 variáveis ambientais mencionadas acima. Os valores foram extraídos para os registros de ocorrência e em 1.000 pontos aleatorizados dentro dos SDMs com ArcMap. Análise de variáveis canônicas (CVA) foi utilizada para reduzir as dimensões das

variáveis ambientais em eixos explicativos (Legendre & Legendre 2012). Os coeficientes estandardizados resultantes da CVA foram usados para identificar as variáveis ambientais que mais contribuíram significativamente para os padrões observados nos SDMs (Legendre & Legendre 2012; McCormack et al. 2010). Utilizamos a matriz de distância generalizada de Mahalanobis (D2, centróide do nicho climático de cada táxon a partir dos registros de ocorrência) para testar a divergência de nicho entre táxons e o seu background ambiental. Forte evidência para divergência de nicho requer: (a) que as características dos nichos sejam diferentes entre os táxons, e (b) que estas diferenças sejam maiores que a divergência observada no background ambiental (McCormack et al. 2010). A matriz D2 entre os centróides dos táxons também foi utilizada em uma análise de agrupamento para verificar a relação entre os táxons, empregando os algoritmos de agrupamento UPGMA e neighbour joining. As análises estatísticas multivariadas foram conduzidas no software Statistica version 6.0.

Resultados

SDMs e níveis de associação entre táxons do complexo M. oreas

Os modelos apresentaram acurácia elevada (AUC, $0,957 \pm 0,018$) e não diferiram da média entre todos os táxons ($P = 0,335$). A partir dos SDMs, observamos uma separação consistente dos espaços ambientais entre os pares coespecíficos, que também foi sustentada pela baixa correlação ($< 20\%$) entre os modelos (Fig. S1; Tabela S2).

O SDM de *M.b. amethystinus* apresentou valores elevados de adequabilidade em áreas de drenagem de bacias hidrográficas, contrastando com o do seu par *M.b. bahiensis* (Mbb), que ocorreu em áreas disjuntas de chapadas e serras, com 11,44% do espaço geográfico sobreposto (Fig. 1; Fig. S1a). A adequabilidade ambiental média nos pontos de ocorrência foi

de 71% em *M.b. amethystinus* e 66% em *M.b. bahiensis*. Além disso, a população MbbBE (Barra da Estiva - Bahia) foi predita pelo modelo de *M.b. amethystinus*.

O SDM de *M.e. longicarpus* apresentou valores elevados de adequabilidade para a vertente oeste da Cadeia do Espinhaço (Fig. 1; Fig. S1b). *M.e. ernestii* (Mee) apresentou disjunções com elevada adequabilidade ambiental, além do indicativo de área potencial na extensão da Chapada do Araripe e na Serra das Matas no estado do Ceará (Fig. 1; Fig. S1b). O par, com 4,91% de sobreposição entre os SDMs, diferiu nos valores médios de adequabilidade para os registros de ocorrência: *M.e. ernestii* (57%) e *M.e. longicarpus* (64%). Além disso, a população MeeDB (Dom Basílio - Bahia) foi predita pelo modelo de *M.e. longicarpus*.

O SDM de *M.o. cremnophilus* (Moc) apresentou padrão de adequabilidade com claro efeito altitudinal na distribuição potencial (i.e., >700 metros), sendo restrita a áreas de chapada e serras da porção leste do Brasil (Fig. 1; Fig. S1c), contrastando com o padrão do seu par *M.o. oreas* que apresentou adequabilidade em áreas com altitude < 450 metros e para além da distribuição conhecida na área de drenagem do Rio Paraguaçu (Fig. 1; Fig. S1c). O par, com 8,83% de sobreposição dos SDMs, difere nos valores para os registros de ocorrência: *M.o. oreas* (83%) e *M.o. cremnophilus* (69%). Além disso, a população MocJ (Jacobina - Bahia) foi predita pelo modelo de *M. e. ernestii*.

De maneira geral, não ocorre sobreposição dos SDMs nas áreas com registros de presença dos pares coespecíficos, mas há ocorrência simpátrica entre espécies (Fig. S1d – f). As espécies *M. bahiensis* e *M. ernestii* possuem 51% de sobreposição dos seus SDMs (Fig. S1d). *M. ernestii* sobrepõe 74,36% da área potencial de *M. oreas* (Fig. S1e). *M. bahiensis* sobrepõe 60,73% da área potencial de *M. oreas* (Fig. S1f).

Divergência de nicho

A partir do método multivariado, divergência de nicho foi detectada consistentemente nos eixos da CVA. Os padrões observados na CVA foram similares aos padrões descritos pelos SDMs, e revelam uma elevada sobreposição do nicho ambiental entre os táxons da região central (Fig. S2). Separação de nicho entre os táxons do sul da distribuição do complexo *M. oreas* (i.e. *M.e. longicarpus* e *M.b. amethystinus*) e os demais táxons é evidente, como ocorre entre o par coespecífico *M.o. oreas* e *M.o. cremnophilus* na região central (Fig. S2). A divergência de nicho ambiental também foi capturada pela distância de Mahalanobis entre os centróides (D2) para os registros de ocorrência e para os pontos do background ambiental dos pares coespecíficos, com maior distância ambiental observada entre *M.o. cremnophilus* e *M.b. amethystinus* e a menor distância entre *M.b. bahiensis* e *M.e. ernestii* (Fig. 2; Tabela S3).

Os dois primeiros eixos da CVA explicam coletivamente 85% da variância. O primeiro eixo, responsável por 67% da variação (Fig. S2), foi mais influenciado pelas variáveis “temperatura média anual”, precipitação média anual” e “temperatura média do trimestre mais quente”. O segundo eixo (18% da variância) apresentou variação associada com a “altitude”, “temperatura média do trimestre mais frio” e “sazonalidade da temperatura” (Fig. S2).

M.b. amethystinus é encontrado em locais com maior temperatura e precipitação média anual ~1.000 mm, e menor precipitação do trimestre mais frio quando comparado ao seu par coespecífico, que ocorre em habitats menos sazonais, com menor temperatura e precipitação inferior a 880 mm (Tabela S1). *M.o. cremnophilus* apresenta correspondência com o seu par coespecífico na maioria das variáveis ambientais relacionadas com a precipitação, sendo separados no 2º eixo da CVA por ocorrer em localidades acima de 700 metros e com dois a três graus a menos na temperatura média anual e maior temperatura média do trimestre mais quente e mais frio (Tabela S1). *M.e. longicarpus* difere em todos os atributos ambientais do

seu par coespecífico com exceção da sazonalidade da temperatura e temperatura média do trimestre mais quente. Comparativamente, *M.e. longicarpus* ocorre em habitats com maior precipitação média anual, menor precipitação do período mais seco (< 3 mm) e do trimestre mais frio (< 11 mm) do que *M.e. ernestii* (Tabela S1).

A partir das análises de variância multivariada (MANOVA), testando divergência de nicho entre pares infraespecíficos, evidenciamos diferenciação ambiental significativa ($P < 0,001$) entre todas as comparações, com exceção dos táxons centrais *M.e. ernestii* e *M.b. bahiensis* e *M.e. ernestii* e *M.o. oreas* (Tabela S3). Essas diferenças também foram, em geral, maiores que a divergência observada no background ambiental, reforçando a tendência de divergência de nicho no complexo *M. oreas* (Tabela S3). De modo similar, mostramos que os valores de similaridade observada entre os registros de ocorrência dos táxons simpátricos não coespecíficos possuem menor divergência ambiental do que táxons alopátricos coespecíficos (Tabela S4), a partir dos testes de identidade de nicho (Schoener D e Warren I). O padrão de divergência é sustentado quando comparado com os valores de similaridade estimados pelos modelos nulos de distribuição, rejeitando a hipótese de que algum táxon seja distribuído em espaços climáticos idênticos (Tabela S4). Além disso, os táxons centrais não apresentaram divergência significativa dos nichos (Tabela S4). Esses padrões foram consistentes pelas duas métricas (D e I).

A comparação com modelos nulos de divergência de background entre pares coespecíficos apresentou correspondência para divergência de nicho (Tabela 1). Divergência de nicho foi sustentada em 13 das 15 comparações aos pares entre as subespécies, com respeito a pelo menos uma das distribuições dos modelos nulos (Tabela 1). Os táxons *M.e. ernestii* e *M.b. bahiensis*, e *M.e. ernestii* e *M.o. oreas*, não diferiram entre si a partir do background ambiental como reportado pela MANOVA (Tabela S3; Fig. S2)

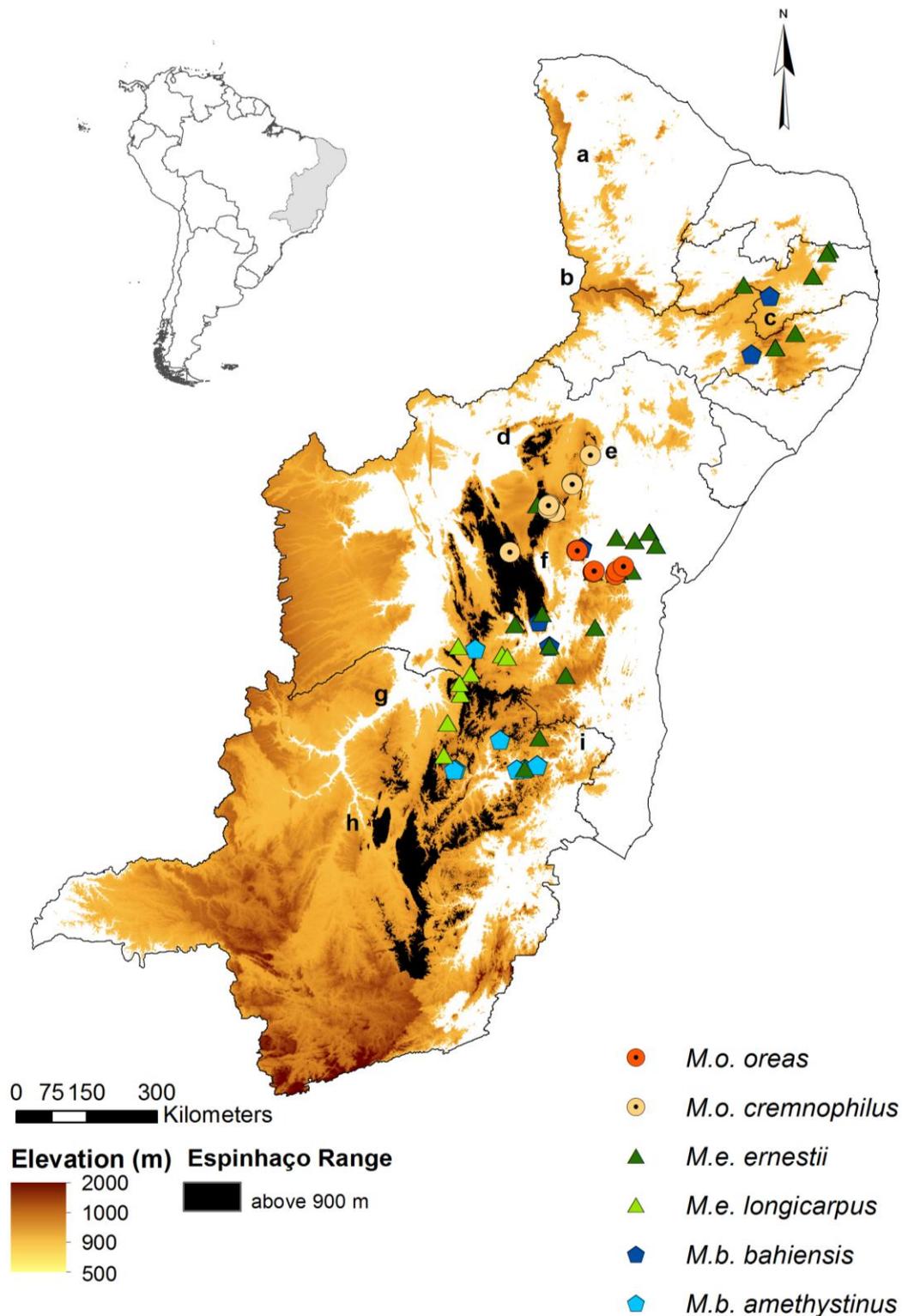


Figura 1 Localização das populações dos táxons infraespecíficos do complexo *Melocactus oreas* utilizadas na criação dos modelos de distribuição de espécies (SDMs). Letras minúsculas indicam principais disjunções detectadas pelos SDMs (Fig. S1) e formações relacionadas: (a) Serra das Matas; (b) Chapada do Araripe; (c) Serra dos Cariris Velhos + Chapada da Borborema; (d) Serra São Francisco; (e) Serra do Tombador; (f) Chapada Diamantina; (g) drenagem Rio São Francisco; (h) drenagem da Bacia do Rio das Velhas; (i) drenagem da Bacia do Rio Jequitinhonha. Em preto é dado destaque para a formação da Cadeia do Espinhaço e Chapada Diamantina.

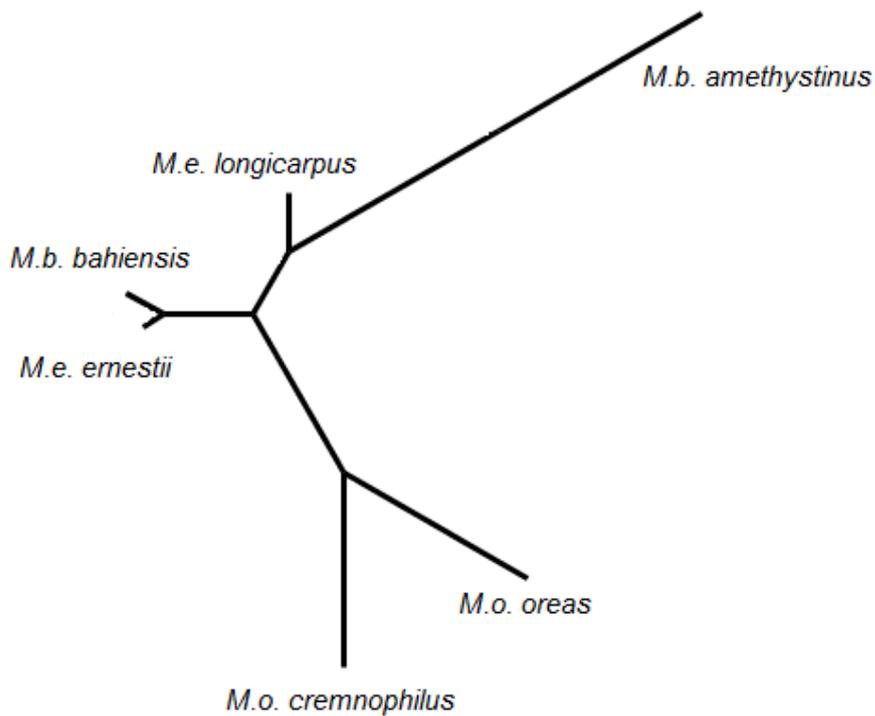
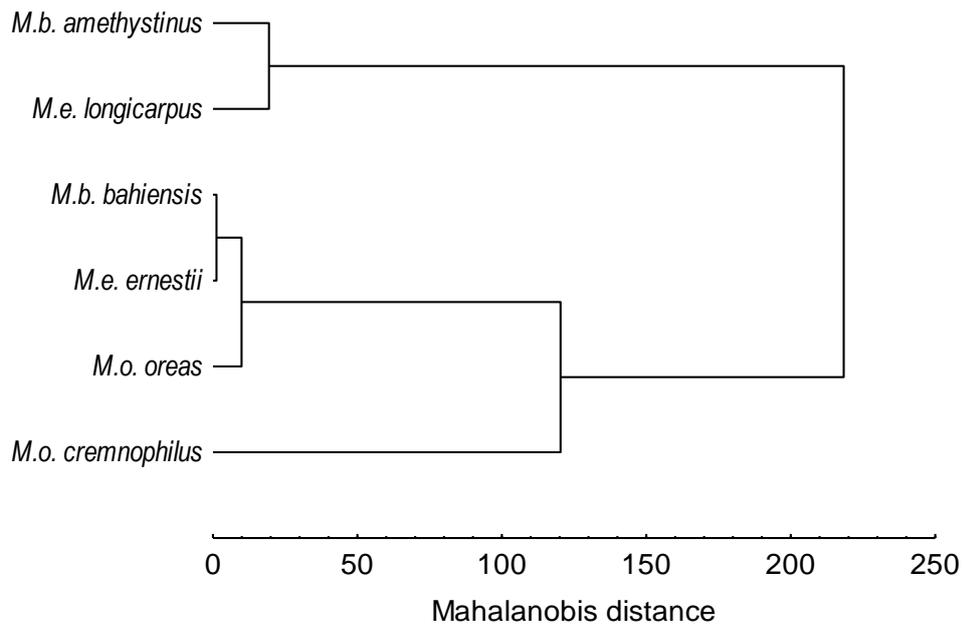


Figura 2 Relação entre os táxons do complexo *Melocactus oreas* a partir da matriz de distância de Mahalanobis das 10 variáveis ambientais com algoritmo de agrupamento UPGMA (acima), e neighbour joining (abaixo).

Tabela 1 Testes de similaridade de nicho entre os modelos de distribuição dos táxons do complexo *Melocactus oreas*. Valores de sobreposição de nicho de Schoener *D* e Warren *I* (Tabela S4) são comparados à distribuição nula de divergência do ‘background’. Cada comparação par-a-par produz duas análises recíprocas, uma em que o modelo de nicho da espécie A é comparado com um modelo de nicho gerado a partir de pontos aleatórios na área geográfica da espécie B e vice-versa (abaixo e acima da diagonal, respectivamente). Valores de sobreposição menores que a distribuição nula apoiam a divergência de nicho (D), enquanto que valores maiores apoiam o conservadorismo de nicho (C). Valores sem diferenças significativas (NS, $P > 0,05$) indicam que os níveis de sobreposição de nicho são menores do que o esperado pelo acaso. Valores médios \pm SD (mínimo - máximo) das 100 aleatorizações são apresentados.

Schoener <i>D</i>	<i>M.b. amethystinus</i>	<i>M.b. bahiensis</i>	<i>M.e. ernestii</i>	<i>M.e. longicarpus</i>	<i>M.o. cremnophilus</i>	<i>M.o. oreas</i>
<i>M.b. amethystinus</i>	-----	0,356 \pm 0,04 (D) (0,199 – 0,463)	0,238 \pm 0,04 (D) (0,120 – 0,322)	0,433 \pm 0,06 (D) (0,307 – 0,559)	0,264 \pm 0,04 (D) (0,131 – 0,382)	0,239 \pm 0,05 (D) (0,087 – 0,318)
<i>M.b. bahiensis</i>	0,273 \pm 0,03 (D) (0,191 – 0,362)	-----	0,693 \pm 0,04 (NS) (0,603 – 0,775)	0,254 \pm 0,02 (D) (0,197 – 0,301)	0,764 \pm 0,07 (D) (0,563 – 0,912)	0,584 \pm 0,06 (D) (0,444 – 0,774)
<i>M.e. ernestii</i>	0,168 \pm 0,03 (D) (0,113 – 0,238)	0,621 \pm 0,05 (NS) (0,474 – 0,705)	-----	0,127 \pm 0,02 (D) (0,080 – 0,169)	0,578 \pm 0,06 (D) (0,447 – 0,688)	0,597 \pm 0,06 (NS) (0,435 – 0,734)
<i>M.e. longicarpus</i>	0,490 \pm 0,05 (D) (0,376 – 0,674)	0,298 \pm 0,04 (D) (0,199 – 0,429)	0,168 \pm 0,03 (D) (0,082 – 0,246)	-----	0,277 \pm 0,04 (D) (0,167 – 0,362)	0,178 \pm 0,05 (D) (0,075 – 0,275)
<i>M.o. cremnophilus</i>	0,222 \pm 0,03 (D) (0,144 – 0,308)	0,577 \pm 0,04 (D) (0,494 – 0,683)	0,496 \pm 0,03 (D) (0,426 – 0,568)	0,221 \pm 0,03 (D) (0,156 – 0,272)	-----	0,406 \pm 0,05 (D) (0,257 – 0,513)
<i>M.o. oreas</i>	0,164 \pm 0,03 (D) (0,095 – 0,259)	0,563 \pm 0,04 (D) (0,401 – 0,675)	0,638 \pm 0,03 (NS) (0,547 – 0,701)	0,103 \pm 0,02 (D) (0,053 – 0,152)	0,477 \pm 0,05 (D) (0,321 – 0,591)	-----
Warren <i>I</i>						
<i>M.b. amethystinus</i>	-----	0,586 \pm 0,06 (D) (0,401 – 0,709)	0,448 \pm 0,05 (D) (0,296 – 0,551)	0,735 \pm 0,06 (D) (0,599 – 0,834)	0,480 \pm 0,07 (D) (0,271 – 0,643)	0,435 \pm 0,06 (D) (0,191 – 0,556)
<i>M.b. bahiensis</i>	0,496 \pm 0,04 (D) (0,384 – 0,606)	-----	0,914 \pm 0,02 (NS) (0,856 – 0,956)	0,467 \pm 0,03 (D) (0,389 – 0,537)	0,940 \pm 0,03 (D) (0,831 – 0,992)	0,837 \pm 0,05 (D) (0,697 – 0,955)
<i>M.e. ernestii</i>	0,355 \pm 0,04 (D) (0,269 – 0,466)	0,867 \pm 0,04 (NS) (0,729 – 0,920)	-----	0,284 \pm 0,03 (D) (0,203 – 0,351)	0,834 \pm 0,05 (D) (0,710 – 0,914)	0,847 \pm 0,04 (NS) (0,696 – 0,931)
<i>M.e. longicarpus</i>	0,783 \pm 0,05 (D) (0,666 – 0,908)	0,535 \pm 0,05 (D) (0,402 – 0,679)	0,356 \pm 0,05 (D) (0,231 – 0,458)	-----	0,488 \pm 0,06 (D) (0,317 – 0,600)	0,390 \pm 0,07 (D) (0,206 – 0,524)
<i>M.o. cremnophilus</i>	0,436 \pm 0,04 (D) (0,309 – 0,567)	0,852 \pm 0,03 (D) (0,791 – 0,917)	0,785 \pm 0,03 (D) (0,718 – 0,847)	0,403 \pm 0,04 (D) (0,307 – 0,478)	-----	0,691 \pm 0,05 (D) (0,499 – 0,804)
<i>M.o. oreas</i>	0,368 \pm 0,06 (D) (0,234 – 0,521)	0,825 \pm 0,03 (D) (0,683 – 0,904)	0,865 \pm 0,02 (NS) (0,794 – 0,904)	0,281 \pm 0,03 (D) (0,196 – 0,359)	0,752 \pm 0,04 (D) (0,612 – 0,839)	-----

Discussão

A partir das 10 camadas bioclimáticas empregadas nas análises multivariadas e SDMs, confirmamos que a relação ambiental-geográfica entre os pares infraespecíficos são consistentes com o modelo de especiação ecológica. Estas conclusões foram reforçadas com os resultados dos testes estatísticos de similaridade e divergência de nicho baseado em Warren et al. (2008). Taylor & Zappi (2004) sugeriram, após estudos de campo com cactos no leste do Brasil, que a especiação provavelmente ocorreu em alopatria na maioria dos táxons relacionados e especialmente táxons-irmãos, que raramente ocorrem em simpatria nos dias atuais. Nesse sentido, um modelo de especiação em que o isolamento reprodutivo se acumula em alopatria, com uma contribuição significativa da seleção natural divergente mediada ecologicamente, foi consistente com a divergência de nicho e a distribuição geográfica observada nos pares coespecíficos do complexo *M. oreas*.

O arranjo espacial dos afloramentos rochosos dentro da matriz de Floresta Tropical Seca no leste do Brasil, reforça o isolamento dos táxons e populações do complexo *M. oreas*. Esse isolamento pode ser maximizado pela divergência ambiental e pelas dinâmicas populacionais internas dos cactos nos afloramentos (p.e., baixa probabilidade de estabelecimento; Capítulo 1; Capítulo 2; Hughes et al. 2011), e que podem afetar diretamente o sucesso de migrantes (Rissler & Apodaga 2007; Nakazato et al. 2010; Sexton et al. 2013). Essa baixa intercambialidade ecológica observada entre os pares coespecíficos do complexo *M. oreas* poderia explicar os níveis de estruturação morfológica diagnosticado por Hughes et al. (Capítulo 4), os quais foram relacionados positivamente com componentes espaciais (p.e., latitude, distância geográfica) e climáticos (sazonalidade da precipitação e precipitação anual).

Os padrões de divergência de nicho entre os táxons do complexo *M. oreas*, relacionados com as variáveis temperatura, precipitação e altitude (p.e., *M.b. bahiensis* e *M.b. amethystinus*), são concordantes com a hipótese de Janzen (1967), que emergiu das considerações sobre a divergência fenotípica dirigida pelo clima, e do efeito da variação

climática no isolamento geográfico de linhagens. Esse modelo de seleção divergente também foi considerado em outros estudos com espécies de plantas (p.e., espécies de *Solanum*; Nakazato et al. 2010) e animais (p.e. *Epipedobates* spp., Graham et al. 2004; *Ithomiola* spp., Hall 2005; *Aneides flavipunctatus*, Rissler & Apodaca 2007; complexo *Phrynosoma coronatum*, Leaché et al. 2009), sugerindo que o surgimento de linhagens foi direcionado tanto pelo isolamento por distância quanto isolamento ambiental ou ecológico (referências em Sexton et al. 2013).

O conservadorismo de nicho também foi observado entre os táxons *M.e. ernestii* e *M.o. oreas* na região central da distribuição do complexo *M. oreas*. Essa similaridade ambiental pode ter se dado pelo provável contato secundário após divergência morfológica em alopatria em nichos conservados. Além disso, fenótipos intermediários foram observados em populações sintópicas desses dois táxons (Capítulo 4). Nesse contexto, podemos sugerir que: (1) as linhagens evoluíram recentemente, o que pode incluir a falta de variação genética para permitir ocupar novos nichos ecológicos, e a seleção determinando um padrão ambiental consistente (Wiens et al. 2010), e (2) o nicho seja temporalmente conservado, o que pode ter direcionado para uma mesma tolerância ambiental, e que a natureza insular e microambiental conduziu para um padrão morfológico diferenciado. Similarmente, McCormack et al. (2010) mostraram que a formação das linhagens de *Aphelocoma ultramarina* não foi concordante com o modelo de especiação ecológica porque, na maioria dos casos, os ambientes disjuntos não foram significativamente mais divergentes do que o esperado sob um modelo nulo, sugerindo contato posterior por expansão ou evento simpátrico associado a fatores etológicos.

Eventos de poliploidização e hibridização são recorrentes em espécies vegetais (Otto & Whitton 2000) e foram reportados por Assis et al. (2003) e Lambert et al. (2006a; 2006b) para espécies do gênero *Melocactus*, e por Majure et al. (2012) para o clado *Humifusa* de *Opuntia s.s.* Estes dois mecanismos podem conduzir à especiação rápida em simpatria e ocupação de nichos ambientalmente distintos pelos poliplóides derivados (Otto & Whitton

2000), como observado no complexo *Claytonia perfoliata* (Portulacaceae) por McIntyre (2012). Nesse contexto, e considerando a difusão da poliploidização em *Melocactus* (Assis et al. 2003), estudos detalhados de variação de ploidia em populações naturais do gênero *Melocactus* no Neotrópico devem ser conduzidos para entender seus efeitos no processo especiativo, de divergência ecológica e co-ocorrência de espécies.

A distribuição de espécies de cactáceas, e especificamente de *Melocactus* no leste do Brasil, evidencia uma separação dos padrões de ocorrência entre os setores norte e sul da área avaliada. O isolamento geográfico entre os dois setores foi relacionado à formação geológica Araripe-Apodi por Taylor & Zappi (2004), e esses autores propõem as hipóteses de idade entre os setores (setor norte mais recente que o sul) ou de eventos de extinção em massa, para explicar o baixo número de espécies de cactos no setor norte. Contudo, populações disjuntas de *Melocactus* foram detectadas recentemente no setor norte por Menezes et al. (2011) e preditas com os nossos modelos de nicho, o que pode relacionar-se com populações remanescentes de eventos de extinção em massa (Clapperton 1993), ou tratar-se simplesmente de um setor com deficiência de dados. Em síntese, estudos mais detalhados envolvendo a flutuação climática histórica neste setor deve contribuir para o teste dessa hipótese.

Eventos de expansão e retração de linhagens no espaço geográfico da América do Sul têm sido associados a processos macroclimáticos, com predominância de vegetações xéricas no final do Mioceno e que podem ter sido mais extensas e contíguas durante o Último Glacial Máximo (Clapperton 1993; Pennington et al. 2000; Werneck et al. 2011). Essas flutuações climáticas podem ter proporcionado isolamento e contato secundário de populações ancestrais repetidas vezes, o que teria determinado o padrão atual de distribuição do gênero *Melocactus* na região Neotropical (Janzen 1967; Ortiz-Jaureguizar & Cladera 2006; Majure et al. 2012).

Com base neste estudo, apresentamos fortes evidências para divergência de nicho como modelo especiativo predominante no complexo *M. oreas*. A estratificação climática latitudinal, associada com a complexidade topográfica na paisagem no leste do Brasil,

poderiam constituir barreiras climáticas para dispersores, levar ao isolamento geográfico de linhagens, e à divergência dirigida pelo clima. Trabalhos futuros devem prover um melhor entendimento das limitações ecofisiológicas desses táxons, relacionando variação espaço-temporal no ambiente e esse efeito na dinâmica populacional. Além disso, a comparação de padrões filogeográficos com os modelos de nicho ecológico atual e paleodistribuições podem auxiliar no entendimento dos processos que desenharam a estrutura geográfica das populações do complexo *M. oreas* e como essas estruturas podem ter sido afetadas pelas mudanças climáticas.

Agradecimentos

Agradecemos a Nigel P. Taylor e Marlon C. Machado pela confirmação da identificação das plantas. A Luciana Hiromi Yoshino Kamino pela revisão do manuscrito. A Antônio Massensini Jr. pelo suporte em campo. Este trabalho recebeu suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - 014/2010). FMH recebeu bolsa de doutorado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). ELB e CMJ agradecem a bolsa de produtividade em pesquisa do CNPq.

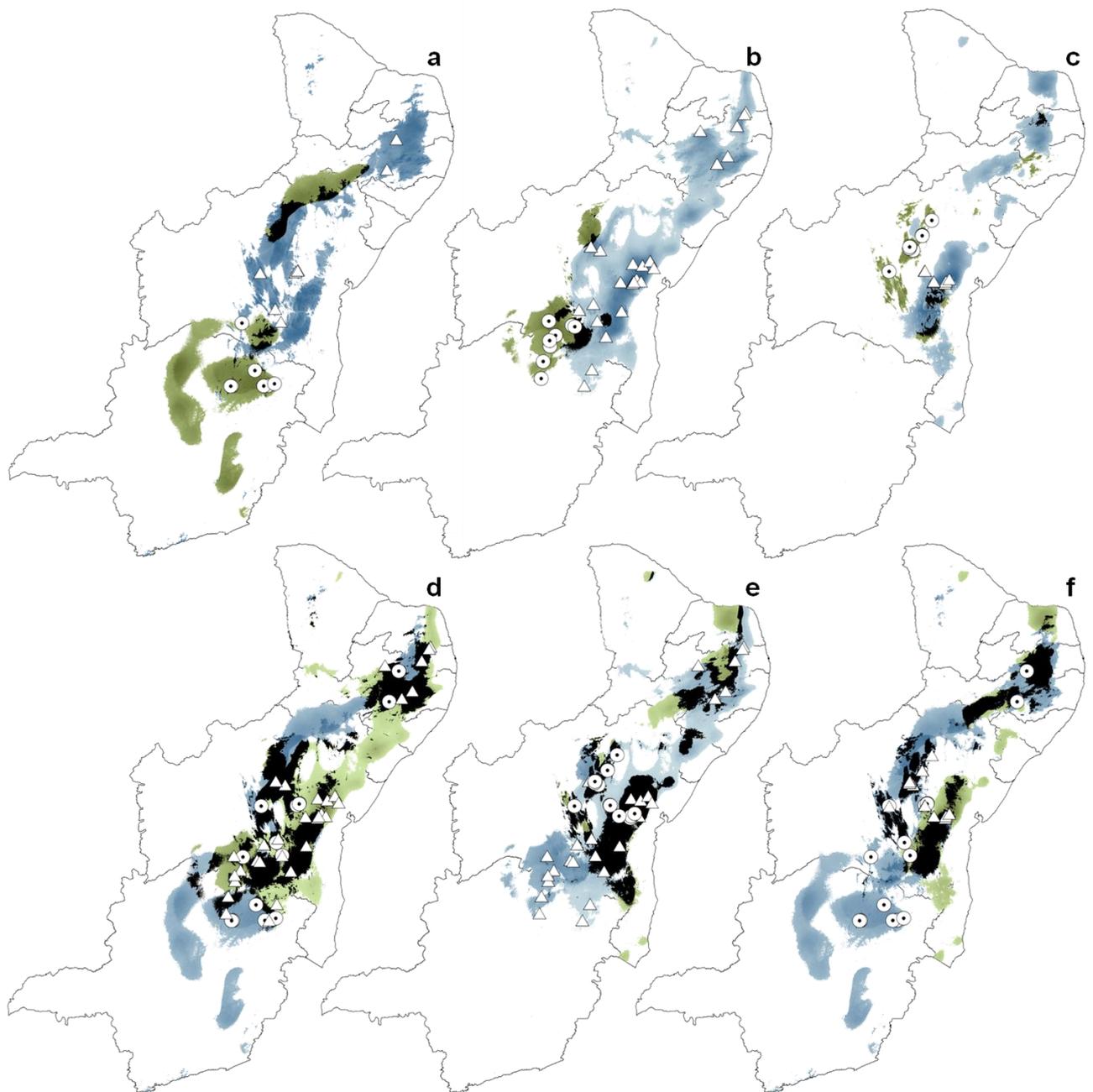


Figura S1 Área de adequabilidade ambiental para os táxons infraespecíficos do complexo *Melocactus oreas*: (a) *M.b. bahiensis* (■) e *M.b. amethystinus* (■), (b) *M.e. ernestii* (■) e *M.e. longicarpus* (■), (c) *M.o. oreas* (■) e *M.o. cremnophilus* (■); e para as espécies somadas (d) *M. bahiensis* (■; círculo) e *M. ernestii* (■; triângulo), (e) *M. ernestii* (■; triângulo) e *M. oreas* (■; círculo), e (f) *M. bahiensis* (■; círculo) e *M. oreas* (■; triângulo). Área de sobreposição do nicho potencial das espécies e dos pares infraespecíficos (■), a partir do algoritmo MaxEnt.

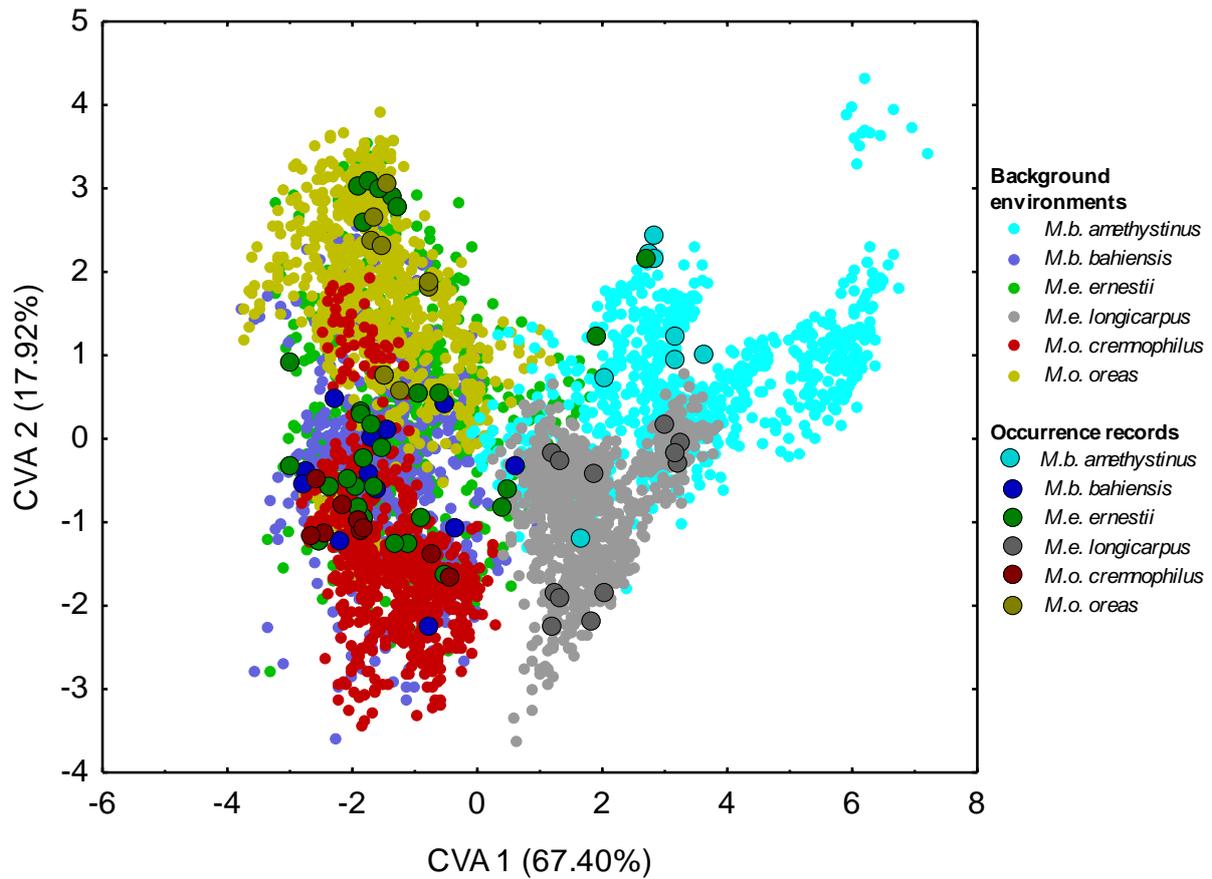


Figura S2 Representação dos valores dos dois primeiros eixos canônicos da CVA a partir de 10 variáveis ambientais extraídas para os registros de ocorrência dos táxons subespecíficos do complexo *Melocactus oreas* com os respectivos backgrounds ambientais. O primeiro eixo da CVA (67,40% da variância) apresenta gradiente de precipitação e de potencial de evapotranspiração com maiores valores carregados negativamente; o segundo eixo (17,92% da variância) corresponde a gradiente altitudinal e precipitação no trimestre mais frio com maiores e menores valores com carga negativa, respectivamente. Ver Tabela S1.

Tabela Suplementar 1 Número de registros (dado entre parênteses abaixo do epíteto específico), variáveis climáticas e de elevação utilizados para construção dos modelos de nicho ecológico. Comparação de médias entre as espécies e subespécies. Os valores são a média \pm SD, seguida pelo mínimo e máximo dos dados ambientais pros táxons do complexo *Melocactus oreas*. Letras ao lado de cada valor indicam locais significativamente diferentes a partir dos testes de comparações múltiplas Student-Newman-Keuls *post hoc* e Kruskal-Wallis ($P < 0,05$).

Descrição Ambiental	<i>Melocactus</i>			<i>Melocactus oreas</i>		<i>Melocactus ernestii</i>		<i>Melocactus bahiensis</i>	
	<i>oreas</i> (22)	<i>ernestii</i> (45)	<i>bahiensis</i> (23)	<i>oreas</i> (11)	<i>cremnophilus</i> (11)	<i>ernestii</i> (32)	<i>longicarpus</i> (13)	<i>bahiensis</i> (14)	<i>amethystinus</i> (9)
Temperatura média anual	22,0 \pm 1,2 a (20,2 – 23,7)	22,4 \pm 1,2 a (20,1 – 25,0)	22,1 \pm 1,5 a (18,3 – 24,5)	23,2 \pm 0,4 c (22,6 – 23,7)	20,9 \pm 0,6 a (20,2 – 21,9)	22,3 \pm 1,2 bc (20,1 – 25,0)	22,8 \pm 1,1 c (20,4 – 24,0)	21,6 \pm 1,3 ab (18,3 – 23,7)	22,8 \pm 1,5 c (20,8 – 24,5)
temperatura média do trimestre mais quente	23,3 \pm 1,3 a (21,5 – 25,1)	23,7 \pm 1,2 a (21,4 – 26,6)	23,4 \pm 1,6 a (19,3 – 26,2)	24,6 \pm 0,4 c (24,1 – 25,1)	22,2 \pm 0,6 a (21,5 – 23,3)	23,6 \pm 1,3 bc (21,4 – 26,6)	23,8 \pm 1,0 bc (21,7 – 24,8)	22,8 \pm 1,3 ab (19,3 – 24,7)	24,4 \pm 1,7 c (22,2 – 26,2)
temperatura média do trimestre mais frio	19,8 \pm 1,2 a (17,9 – 21,5)	20,1 \pm 1,3 a (17,6 – 22,0)	19,7 \pm 1,3 a (16,4 – 21,6)	20,9 \pm 0,4 c (20,4 – 21,5)	18,7 \pm 0,5 a (17,9 – 19,5)	20,0 \pm 1,2 bc (17,6 – 22,0)	20,5 \pm 1,3 c (17,7 – 22,0)	19,4 \pm 1,2 ab (16,4 – 21,6)	20,1 \pm 1,3 bc (18,2 – 21,6)
precipitação anual	738,8 \pm 55,0 a (659 - 877)	784,0 \pm 157,9 ab (537 – 1,127)	842,7 \pm 155,3 b (566 – 1,133)	716,2 \pm 53,3 a (659 - 791)	758,1 \pm 53,5 a (692 - 877)	713,7 \pm 111,6 a (537 - 1005)	957,3 \pm 116,1 b (731 – 1,127)	748,8 \pm 98,1 a (566 - 877)	988,8 \pm 106,0 b (891 – 1,133)
precipitação do período mais seco	14,0 \pm 5,3 b (1 - 21)	9,0 \pm 9,0 a (0 - 38)	8,3 \pm 6,0 a (1 - 20)	16,0 \pm 2,7 c (12 - 19)	13,5 \pm 5,6 c (4 - 21)	12,3 \pm 8,5 c (3 - 38)	0,77 \pm 1,1 a (0 - 3)	11,1 \pm 6,1 c (3 - 20)	3,9 \pm 1,5 b (1 - 6)
precipitação do trimestre mais frio	84,7 \pm 35,0 a (25 - 176)	86,6 \pm 79,6 a (2 - 297)	76,2 \pm 85,7 a (6 - 287)	87,7 \pm 26,6 c (56 - 134)	81,9 \pm 42,4 c (25 - 176)	119,4 \pm 71,7 c (12 - 297)	6,0 \pm 3,1 a (2 - 11)	113,7 \pm 92,6 c (17 - 287)	17,8 \pm 6,4 b (6 - 27)
temperatura média da variação diurna	9,7 \pm 1,2 a (7,5 – 12,2)	10,1 \pm 1,5 a (7,5 – 12,7)	11,0 \pm 1,5 b (8,7- 13,1)	9,0 \pm 1,0 a (7,5 – 10,3)	10,4 \pm 0,9 b (9,7 – 12,2)	9,5 \pm 1,2 ab (7,5 – 12,7)	11,7 \pm 0,7 c (10,8 – 12,7)	10,2 \pm 1,2 b (8,7- 12,2)	12,3 \pm 0,7 c (10,6 – 13,1)
isotermalidade	0,7 \pm 0,03 a (0,64 – 0,78)	0,7 \pm 0,03 a (0,64 – 0,75)	0,7 \pm 0,02 a (0,66 – 0,72)	0,68 \pm 0,03 a (0,64 – 0,72)	0,71 \pm 0,01 b (0,70 – 0,72)	0,68 \pm 0,03 a (0,64 – 0,73)	0,72 \pm 0,02 b (0,69 – 0,75)	0,70 \pm 0,01 ab (0,67 – 0,72)	0,7 \pm 0,01 a (0,66 – 0,70)
sazonalidade da temperatura	13,7 \pm 1,9 a (6,7 – 15,6)	14,5 \pm 1,8 a (11,5 – 18,4)	15,2 \pm 2,4 a (11,2 – 18,6)	14,5 \pm 0,4 a (14,2 – 15,6)	13,6 \pm 1,3 a (11,1 – 15,2)	14,9 \pm 1,8 a (12,3 – 18,4)	13,7 \pm 1,8 a (11,5 – 16,6)	13,8 \pm 1,6 a (11,2 – 17,2)	17,3 \pm 1,8 b (12,6 – 18,6)
altitude (m)	658,1 \pm 320,4 a (218 – 1,059)	613,6 \pm 246,5 a (183 – 1,073)	667,0 \pm 285,4 a (246 – 1,499)	325,7 \pm 80,3 a (218 - 426)	929,2 \pm 82,0 c (777 – 1,059)	583,6 \pm 269,4 b (183 – 1,073)	687,4 \pm 164,3 bc (516 - 993)	743,7 \pm 273,9 bc (426 – 1,499)	547,6 \pm 275,1 b (246 - 913)

Tabela S2. Matriz de correlação gerada no ENMTools entre SDMs produzidos por Maxent v.3.3.3a. Comparação aos pares entre as subespécies do complexo *Melocactus oreas*.

	<i>M.b. bahiensis</i>	<i>M.e. ernestii</i>	<i>M.e. longicarpus</i>	<i>M.o. cremnophilus</i>	<i>M.o. oreas</i>
<i>M.b. amethystinus</i>	0,015	-0,032	0,187	-0,022	-0,023
<i>M.b. bahiensis</i>		0,724	0,149	0,665	0,474
<i>M.e. ernestii</i>			-0,029	0,402	0,691
<i>M.e. longicarpus</i>				0,047	-0,028
<i>M.o. cremnophilus</i>					0,261

Tabela S3 Comparações par-a-par dos táxons subespecíficos do complexo *Melocactus oreas* via MANOVA a partir dos valores das camadas ambientais extraídos dos registros de ocorrência (acima diagonal) e entre pontos aleatorizados no background (pseudoréplicas; abaixo de diagonal). Lambda de Wilks (λ), a distância de Mahalanobis entre centróides (D2) e diferenças significativas ($P < 0,001$) são mostradas em negrito.

	<i>M.bahiensis</i> subsp.amethystinus	<i>M.bahiensis</i> subsp. bahiensis	<i>M. ernestii</i> subsp. ernestii	<i>M. ernestii</i> subsp. longicarpus	<i>M. oreas</i> subsp.cremnophilus	<i>M. oreas</i> subsp. oreas
<i>M. bahiensis</i> subsp. amethystinus	-----	$\lambda=0,032$; $D_2=115,4$ $P < 0,00001$	$\lambda=0,197$; $D_2=22,6$ $P < 0,00001$	$\lambda=0,162$; $D_2=19,4$ $P = 0,0041$	$\lambda=0,005$; $D_2=666,0$ $P < 0,00001$	$\lambda=0,006$; $D_2=599,0$ $P < 0,00001$
<i>M. bahiensis</i> subsp. bahiensis	$\lambda=0,127$; $D_2=27,8$ $P < 0,00001$	-----	$\lambda=0,784$; $D_2=1,24$ $P = 0,491$	$\lambda=0,064$; $D_2=54,5$ $P < 0,00001$	$\lambda=0,223$; $D_2=13,0$ $P = 0,0038$	$\lambda=0,229$; $D_2=12,6$ $P = 0,001$
<i>M. ernestii</i> subsp. ernestii	$\lambda=0,153$; $D_2=22,2$ $P < 0,00001$	$\lambda=0,863$; $D_2=0,6$ $P > 0,05$	-----	$\lambda=0,176$; $D_2=21,8$ $P < 0,00001$	$\lambda=0,309$; $D_2=11,2$ $P < 0,0001$	$\lambda=0,408$; $D_2=7,3$ $P > 0,01$
<i>M. ernestii</i> subsp. longicarpus	$\lambda=0,401$; $D_2=6,0$ $P = 0,001$	$\lambda=0,124$; $D_2=29,1$ $P < 0,00001$	$\lambda=0,143$; $D_2=24,2$ $P < 0,00001$	-----	$\lambda=0,036$; $D_2=99,4$ $P < 0,00001$	$\lambda=0,018$; $D_2=168,2$ $P < 0,00001$
<i>M. oreas</i> subsp. cremnophilus	$\lambda=0,091$; $D_2=40,2$ $P < 0,00001$	$\lambda=0,124$; $D_2=29,1$ $P < 0,00001$	$\lambda=0,439$; $D_2=5,2$ $P < 0,001$	$\lambda=0,099$; $D_2=36,3$ $P < 0,00001$	-----	$\lambda=0,011$; $D_2=336,7$ $P < 0,00001$
<i>M. oreas</i> subsp. oreas	$\lambda=0,097$; $D_2=37,4$ $P < 0,00001$	$\lambda=0,538$; $D_2=3,5$ $P > 0,001$	$\lambda=0,544$; $D_2=3,4$ $P > 0,05$	$\lambda=0,076$; $D_2=48,6$ $P < 0,00001$	$\lambda=0,301$; $D_2=9,3$ $P < 0,00001$	-----

Tabela S4 Resultados das medidas de sobreposição de nicho (abaixo da diagonal) e teste de identidade (acima da diagonal) realizada no ENMTools v.1.4.3. Os valores são comparações par-a-par de sobreposição de nicho de Schoener *D* e Warren *I* para os táxons do complexo *Melocactus oreas* com base em modelos de distribuição de espécies construídos com Maxent v.3.3.3a. Teste de identidade de nicho comparando os valores de similaridade observados com a distribuição simulada para testar a hipótese de que SDMs são mais diferentes uns dos outros do que o esperado pelo acaso (letra D indica que valores de sobreposição de nicho são menores que o esperado, $P < 0,01$).

Schoener <i>D</i>	<i>M.b. amethystinus</i>	<i>M.b. bahiensis</i>	<i>M.e. ernestii</i>	<i>M.e. longicarpus</i>	<i>M.o. cremnophilus</i>	<i>M.o. oreas</i>
<i>M.b. amethystinus</i>	-----	0,794 ± 0,08 (0,561 – 0,921)	0,626 ± 0,06 (0,490 – 0,764)	0,775 ± 0,07 (0,621 – 0,926)	0,777 ± 0,09 (0,376 – 0,935)	0,720 ± 0,11 (0,426 – 0,918)
<i>M.b. bahiensis</i>	0,103 (D)	-----	0,698 ± 0,05 (0,550 – 0,783)	0,840 ± 0,06 (0,633 – 0,968)	0,791 ± 0,08 (0,534 – 0,954)	0,815 ± 0,06 (0,579 – 0,923)
<i>M.e. ernestii</i>	0,067 (D)	0,641 (NS)	-----	0,705 ± 0,05 (0,559 – 0,791)	0,680 ± 0,06 (0,511 – 0,783)	0,666 ± 0,07 (0,496 – 0,816)
<i>M.e. longicarpus</i>	0,158 (D)	0,105 (D)	0,025 (D)	-----	0,796 ± 0,06 (0,603 – 0,902)	0,818 ± 0,07 (0,637 – 0,938)
<i>M.o. cremnophilus</i>	0,029 (D)	0,376 (D)	0,229 (D)	0,072 (D)	-----	0,766 ± 0,08 (0,482 – 0,926)
<i>M.o. oreas</i>	0,075 (D)	0,461 (D)	0,608 (NS)	0,021 (D)	0,171 (D)	-----
Warren <i>I</i>						
<i>M.b. amethystinus</i>	-----	0,956 ± 0,03 (0,831 – 0,994)	0,875 ± 0,04 (0,782 – 0,945)	0,950 ± 0,03 (0,866 – 0,995)	0,948 ± 0,04 (0,688 – 0,995)	0,918 ± 0,06 (0,723 – 0,993)
<i>M.b. bahiensis</i>	0,147 (D)	-----	0,909 ± 0,03 (0,831 – 0,951)	0,971 ± 0,02 (0,862 – 0,999)	0,954 ± 0,03 (0,819 – 0,997)	0,963 ± 0,03 (0,803 – 0,993)
<i>M.e. ernestii</i>	0,117 (D)	0,757 (D)	-----	0,919 ± 0,03 (0,824 – 0,959)	0,899 ± 0,03 (0,789 – 0,953)	0,896 ± 0,04 (0,785 – 0,970)
<i>M.e. longicarpus</i>	0,244 (D)	0,219 (D)	0,068 (D)	-----	0,954 ± 0,03 (0,849 – 0,988)	0,965 ± 0,03 (0,877 – 0,996)
<i>M.o. cremnophilus</i>	0,042 (D)	0,604 (D)	0,424 (D)	0,087 (D)	-----	0,941 ± 0,04 (0,762 – 0,995)
<i>M.o. oreas</i>	0,109 (D)	0,542 (D)	0,717 (D)	0,051 (D)	0,311 (D)	-----

Valores sem diferenças significativas (NS, $P > 0,01$). Valores médios ± SD (mínimo - máximo) das 100 aleatorizações são apresentados.

4

**Congruência taxonômica em populações do complexo
Melocactus oreas (Cactaceae) e tendências geo-topográficas e
climáticas na distribuição da variabilidade morfológica**

Congruência taxonômica em populações do complexo *Melocactus oreas* (Cactaceae) e tendências geo-topográficas e climáticas na distribuição da variabilidade morfológica

Frederic Mendes Hughes · Claudia Maria Jacobi

Departamento de Biologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais 31270-901, Brasil

e-mail: fredericmhughes@gmail.com

Eduardo Leite Borba

Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Santo André, São Paulo 09210-170, Brasil

Resumo

Devido à elevada variação morfológica e distribuição geográfica insular dos cactos do complexo *Melocactus oreas* no leste do Brasil, inúmeros nomes específicos e infraespecíficos compõem a sua história taxonômica. A classificação atualmente aceita é baseada na morfologia e reconhece quatro espécies e sete subespécies. O padrão insular, associado com gradientes ambientais, podem revelar padrões espaciais de variação fenotípica direcionados por fatores climáticos e incongruências morfológicas nas populações e táxons do complexo *M. oreas*. Para avaliarmos esses possíveis padrões e incongruências, medimos 25 caracteres vegetativos em 34 populações distribuídas ao longo de toda amplitude geográfica do complexo. A maioria dos caracteres estudados apresentaram maior variabilidade entre populações do que dentro delas. Os táxons são hipervariáveis, com elevada estruturação populacional e podem ser reconhecidos pelos caracteres de tamanho e número de espinhos, e número de aréolas e costelas. Entretanto, algumas populações necessitaram de revisão do posicionamento para proporcionar maior congruência ao sistema de classificação atual. A variabilidade morfológica nas populações foi positiva e significativamente associada com os preditores espaciais (distância entre populações, latitude e altitude) e climáticos (precipitação anual, sazonalidade da precipitação). O modelo com melhor ajuste explicou mais de 50% da variabilidade morfológica e sempre incluiu o autovetor espacial e sazonalidade da precipitação como variáveis preditoras mais importantes. A análise de partição da variância revelou que a maior parte da variação morfológica não foi explicada pelos efeitos ambientais e espaciais isoladamente. Dessa forma, sugerimos que processos ambientais e espaciais atuam como determinantes da estruturação da variabilidade morfológica do complexo *M. oreas*.

Palavras-chave: Cactos globulares, complexo de espécies, floresta tropical seca, gradiente latitudinal, partição da variância, variabilidade climática

Introdução

A adaptação aos atributos climáticos é considerada um dos fatores direcionadores da mudança fenotípica e especiação (Janzen 1967; Blows & Hoffmann 2005; Gaston 2009). Essa resposta adaptativa é suportada por um crescente corpo de evidências e emerge de maneira mais notável na variação morfológica observada entre populações centrais e periféricas (Sexton et al. 2009; Paiaro et al. 2012; Caley et al. 2013). A variação fenotípica de populações disjuntas em um mosaico espacial também é comum em espécies de plantas e pode refletir, além do clima, a complexidade topográfica e edáfica (p.e., Hughes & Eastwood 2006; Fregonezi et al. 2013). Neste contexto, as relações entre os regimes climáticos e a complexidade topográfica, com as variações na forma e tamanho de caracteres, podem fornecer evidências indiretas de diversificação mediada ecologicamente (Gaston 2009; Schluter 2009; Kozak & Wiens 2010; Nattero et al. 2011).

Os padrões de variação fenotípica no espaço geográfico e ambiental são frequentemente utilizados para determinar os limites de espécies conflitantes taxonomicamente pois, proporcionam uma visão mais coerente sobre os possíveis processos ecológicos e mecanismos evolutivos envolvidos (de Queiroz 2007; Bennett et al. 2008). Esses padrões geográficos foram amplamente empregados por Taylor & Zappi (2004) na caracterização morfológica e delimitação taxonômica em espécies de cactos, particularmente do gênero *Melocactus* (Cactaceae). No entanto, a taxonomia do gênero permanece instável por causa de fatores complicadores, como complexidade dos padrões de variação morfológica, hibridização e poliploidização (Assis et al. 2003; Lambert et al. 2006a,b), distribuição disjunta de populações e plasticidade fenotípica dos cactos (Taylor 1991; Taylor & Zappi 2004).

Cerca de 44% das 16 espécies do gênero *Melocactus*, que ocorrem no leste do Brasil, apresentam sobreposição nos caracteres morfológicos utilizados na taxonomia do grupo, e foram organizadas em complexos de espécies, que frequentemente são divididas em

subespécies, variedades e formas. O complexo *M. oreas* é atualmente reconhecido por quatro espécies, que se subdividem em duas subespécies cada, e que ocorrem em afloramentos rochosos, com exceção de *M. conoideus* (Taylor & Zappi 2004). Entretanto, a história dos táxons que compõem o complexo *M. oreas* é composta por diversos nomes específicos e subespecíficos. A maioria desses nomes foi sinonimizada devido à elevada sobreposição da variação morfológica, mas que é ainda pouco investigada quantitativamente em populações naturais (Taylor & Zappi 2004). Uma desvantagem de uma classificação baseada em morfologia, especialmente em Cactaceae deve-se à plasticidade fenotípica dos caracteres empregados (Helsen et al. 2009). Além disso, a natureza contínua de muitas das características morfológicas limita a sua utilidade para a classificação (Machado et al. 2005). Consequentemente, as decisões taxonômicas estão associadas com recortes altitudinais e/ou faixas latitudinais. Neste caso, o reconhecimento de grupos taxonômicos formais pode indicar táxons discretos onde não existem.

As espécies de cactos apresentam atributos fisiológicos como a especialização fotossintética tipo CAM (metabolismo ácido das crassuláceas), e morfológicos como a suculência da parte vegetativa ou cladódio (Lüttge 2004). Esses atributos conferiram potencial adaptativo para a ocupação de ambientes preferencialmente xéricos (Arakaki et al. 2011). O primeiro possibilitou maior eficiência sobre o uso da água armazenada e o segundo o estoque de água ‘necessária’ para sobreviver aos períodos de seca (Lüttge 2004; Mauseth 2006). Com a relativa homogeneidade fisiológica observada entre espécies de cactos (Lüttge 2004), variações quantitativas na parte vegetativa e nas estruturas reprodutivas podem ter favorecido a diversificação dos cactos em ambientes que divergiam em seus padrões de chuva e temperatura (Mauseth 2000; Lüttge 2004; Egli & Nyffeler 2009). Essa variabilidade morfológica, particularmente na combinação de formas, tamanho e números de costela (estriamento do caule fotossintetizante), pode ter sido importante nas oportunidades

ecológicas experimentadas pelas linhagens ancestrais (Mauseth 2000; Lüttge 2004; Arakaki et al. 2011). Segundo Mauseth (2000), esta variabilidade na capacidade de armazenamento e na relação superfície:volume (S/V) dos cactos, por exemplo, tem importância considerável na sua manutenção em diversos ambientes onde ocorrem.

Com a expansão dos núcleos áridos no leste do Brasil sobre uma paisagem com elevada complexidade topográfica, edáfica e climática (Clapperton 1993; Velloso et al. 2002; Pennington et al. 2009), os cactos passaram a ocupar esses novos espaços (Franco & Nobel 1989). Por exemplo, as espécies do complexo *M. oreas* se especializaram em habitats rupícolas no leste do Brasil (Taylor & Zappi 2004). Esses afloramentos rochosos são caracterizados por floras microendêmicas e de baixa similaridade florística com o habitat circundante e outros afloramentos (Conceição et al. 2007; Porembski 2007). Essas características podem ter emergido pela natureza insular destes habitats e pelo arranjo espacial que, combinados, influenciam na conectividade da paisagem entre populações restritas aos afloramentos rochosos (Barbará et al. 2007; Losos & Ricklefs 2009; Palma-Silva et al. 2011). Esses afloramentos são dispersos espacialmente e podem estar associados a variações latitudinais de fatores climáticos, mas variações na complexidade topográfica da paisagem podem proporcionar comportamentos não aleatórios do clima do tipo gradual ou mosaico (Nattero et al. 2011; Paiaro et al. 2012).

O objetivo do presente estudo foi, primeiro, avaliar a variabilidade morfológica das populações do complexo *Melocactus oreas*, utilizando uma bordagem multivariada, a fim de analisar o número de entidades taxonômicas envolvidas e como elas poderiam ser morfológicamente diferenciadas. Segundo, avaliar se a variação espacial de fatores climáticos (precipitação, temperatura) ou as relações espaciais (latitudinal, topográfica) são importantes preditores da variação morfológica observada no complexo *M. oreas*. Neste contexto, se o enquadramento taxonômico atual for congruente com a variabilidade encontrada nas

populações, então essa congruência deve ser reforçada pelo padrão de distribuição alopátrica entre os pares coespecíficos (hipótese de especiação alopátrica de Taylor & Zappi 2004). Além disso, a divergência de nicho ecológico observada entre os táxons do complexo *M. oreas* (Capítulo 3) pode ter desempenhado um papel importante no isolamento ecológico, com seleção de imigrantes adaptados às condições locais (Sexton et al. 2014). Neste caso, espera-se baixa variabilidade morfológica entre populações de um mesmo táxon. Por outro lado, se o espaço ambiental ocupado por um táxon for muito heterogêneo, pode ocorrer eventos de plasticidade fenotípica adaptativa, e a maior variabilidade morfológica se expressar entre populações: em primeiro lugar, essa resposta adaptativa deve emergir de maneira mais notável na variação morfológica observada entre populações centrais e periféricas. Em segundo lugar, populações isoladas em habitats com maior complexidade topográfica e distância altitudinal, também devem apresentar elevada diferenciação morfológica pela redução da capacidade dispersiva entre estes afloramentos. Em terceiro lugar, populações em ambientes mais irregulares climaticamente devem exibir maior variabilidade morfológica, do que aquelas em ambientes mais previsíveis.

MATERIAL E MÉTODOS

Populações estudadas e caracteres morfológicos

Dados morfométricos para esse estudo foram obtidos a partir de 34 populações e 438 espécimes do complexo *Melocactus oreas* distribuídas no leste do Brasil (quatro espécies e seis subespécies), onde consideramos toda amplitude geográfico-ecológica dos táxons (ver Tabela S1 e Fig. S1), a partir dos mapas de ocorrência disponíveis em Taylor & Zappi (2004). Para cada população registramos latitude, longitude e altitude utilizando um GPS portátil (Garmin; *datum* geodésico = WGS84). Validamos a altitude utilizando Google Earth (Google, Inc.). Todos os vouchers foram depositados no herbário da Universidade Federal de Minas Gerais (BHCB) (Tabela S1). As populações nas quais foram coletados os holótipos de todos

os nomes específicos e infraespecíficos envolvidos no sistema de classificação atual (Taylor 1991) foram incluídas, com exceção de *M. bahiensis* subsp. *bahiensis* onde a maioria das populações indicadas por Taylor & Zappi (2004) haviam sido extintas localmente (F.M. Hughes obs. pess.). Neste caso, estas populações serão utilizadas como referência ou entidades discretas para os padrões morfológicos esperados de cada táxon. As populações ocorrem em mais de 15 litotipos (GeoBank – CPRM, <http://geobank.sa.cprm.gov.br/>) e uma ampla gama de condições ambientais (ver Tabela S1 para detalhes): 594–1.133 mm de precipitação anual (bio_12); 23–95% de variação da precipitação (bio_15); 19,9–25,0 °C de temperatura média anual (bio_1); 11,1–18,4 °C de sazonalidade da temperatura (bio_4) (WorldClim, Hijmans et al. 2005, <http://www.worldclim.org/>); 192–1.179 m de altitude (STRM, <http://srtm.csi.cgiar.org/>).

Os 438 espécimes, todos na fase adulta (determinada pela presença de uma estrutura reprodutiva terminal denominada cefálio), ficaram assim distribuídos por táxon: *M. oreas* subsp. *oreas* (três populações, 44 indivíduos), *M. oreas* subsp. *cremnophilus* (três pop., 44 indiv.), *M. ernestii* subsp. *ernestii* (12 pop., 167 indiv.), *M. ernestii* subsp. *longicarpus* (cinco pop., 73 indiv.), *M. bahiensis* subsp. *bahiensis* (quatro pop., 28 indiv.), *M. bahiensis* subsp. *amethystinus* (cinco pop., 57 indiv.) e *M. conoideus* (uma pop., 13 indiv.) (Tabela S1; Fig. S2). Para cada espécime, registramos 25 caracteres morfológicos (Tabela S2) comumente utilizados na literatura especializada sobre cactos (Taylor 1991; Schmalzel et al. 2004; Carmona & Casas 2005; Lambert et al. 2006a, 2006b). Os caracteres vegetativos de #8 a #24 representam a média de quatro valores em diferentes costelas tomados prioritariamente na quarta aréola visível a partir da base da planta (Tabela S2). A relação entre superfície e volume (#25, S/V) foi determinada pela equação $S/V = 2N\sqrt{H^2 + (\pi r / N)^2} / \pi r H$, onde: N, número de costelas no cladódio; H, altura das costelas; r, raio do cladódio (Mauseth 2000).

Caracteres discriminantes e estruturação morfológica populacional

Empregamos análise de variância simples (one-way ANOVA) para verificar as diferenças dos 25 caracteres entre os táxons. Comparações *post hoc* entre médias associadas com correção de Bonferroni foram feitas utilizando o teste múltiplo Student–Newman–Keuls no software Statistica v6.0 (StatSoft 2003). Quando necessário, os caracteres foram transformados para alcançar a normalidade. Os 25 caracteres morfológicos foram introduzidos em modelos regressivos múltiplos para verificação das colinearidades e exclusão de caracteres por meio do cálculo do fator de inflação da variância (VIF). Uma matriz final com 15 caracteres (coeficiente de correlação < 0,60; VIF < 3,6) foi obtida e utilizada nas análises posteriores (Tabela S2); assim o efeito da multicolinearidade nos resultados foi improvável. O modelo múltiplo ($r^2 = 0,776$; $F_{(15, 419)} = 103,62$; $P < 0,001$) não foi significativamente afetado por estruturas de erros não-normais (teste de Kolmogorov-Smirnov) e erros autocorrelacionados (teste de Durbin-Watson = 1,98; $IC_{1\% - 5\%} = 1,822 - 1,884$). Para avaliarmos a partição da variância desses 15 caracteres entre e dentro das populações (efeito fixo) de cada táxon, empregamos modelos de efeitos mistos (*mixed-effects model*, Zuur et al. 2009) implementado no pacote ‘lme4’ no programa estatístico R3.1.0 (R Development Core Team).

A importância dos 15 caracteres morfológicos na discriminação das populações e táxons do complexo *M. oreas* foi avaliada por métricas multivariadas complementares (Goldman et al. 2004; Baker 2006; Lambert et al. 2006a): análise de variáveis canônicas (CVA), análise por funções de discriminantes (DFA) e análise de agrupamento. Realizamos uma análise de variância multivariada (MANOVA) para detectar diferenças entre populações. Para determinar quais dos 15 descritores morfológicos (preditores, TabelaS2) melhor discriminam as 34 populações, avaliamos os coeficientes de correlação dos descritores com os eixos resultantes da CVA (Legendre & Legendre 2012). O número de fatores da CVA,

utilizados para interpretação dos padrões das populações do complexo *M. oreas*, foi determinado pelo critério da raiz latente com retenção de 1% da variância pelo autovalor (Legendre & Legendre 2012). Empregamos DFA para prever a correta classificação de um espécime no grupo original a partir da sua distância de Mahalanobis para o centróide da população de ocorrência (Legendre & Legendre 2012). A mediana destas distâncias ($D2_m$) foi utilizada como uma medida de variabilidade morfológica de cada população. Uma matriz de distâncias padronizadas de Mahalanobis par-a-par entre os centróides das populações ($D2$) foi utilizada em uma análise de agrupamento para verificar a relação fenética entre estas populações empregando o algoritmo de agrupamento UPGMA e Neighbour-joining (NJ). O ajuste entre a matriz de distância e o dendrograma foi estimado pelo coeficiente de correlação cofenética. Avaliamos a normalidade com a aplicação do teste de Shapiro-Wilk ($W = 0,997$; $P = 0,811$) sobre as distâncias de Mahalanobis estandardizadas, extraídas do espaço multidimensional entre cada espécime e a origem (0,0) (Dagnelie 1975; *apud* Legendre & Legendre 2012). Neste caso, a hipótese de multinormalidade dos dados originais pode ser aceita.

Análises multi-response permutation procedure (A_{MRPP}) foram conduzidas para calcular a correta chance de conformidade dos espécimes dentro das populações de cada táxon (Borba et al. 2002). A distância Euclidiana (ED) resultante da análise A_{MRPP} e a mediana da distância de Mahalanobis ($D2_m$) foram utilizadas como medidas de variabilidade morfológica intrapopulacional (Borba et al. 2002; Goldman et al. 2004). Os dois índices são essencialmente diferentes porque $D2_m$ é mais afetado pela forma e ED (distância Euclidiana) é mais afetada pelo tamanho dos caracteres morfológicos (Lambert et al. 2006a).

Determinantes climáticos e espaciais da variabilidade morfológica

Empregamos testes parciais de Mantel para avaliar o efeito de gradientes espaciais na estruturação morfológica e, neste caso, parte da variabilidade morfológica observada entre populações (D2) pode ser predita por fatores climáticos e espaciais. Para este fim, matrizes de complexidade topográfica (TOPO), distância perpendicular euclidiana (DEP) (*ver* Guarnizo & Cannatella 2014) e distância euclidiana ambiental (DAM) entre populações foram construídas e incorporadas em modelos causais (Legendre & Trousselier 1988; Cushman & Landguth 2010). A matriz DAM foi elaborada a partir dos valores de 9 variáveis bioclimáticas obtidos para as 34 populações [bio_1, bio_4, bio_12, bio_15, temperatura média do trimestre mais quente (bio_10), temperatura média do trimestre mais frio (bio_11), precipitação do período mais seco (bio_14), precipitação do trimestre mais frio (bio_19), temperatura média da variação diurna (bio_2) e isothermalidade (bio_3)]. Modelos causais que descrevem o efeito de várias combinações de variáveis espaciais e ambientais na diferenciação morfológica entre populações (D2) foram caracterizados por uma combinação única de correlações parciais, e suportado apenas caso se verifiquem todas as condições (Cushman & Landguth 2010). Os modelos causais foram testados com correlações parciais de Mantel no programa ZT v.1.1 com 10,000 permutações (Bonnet & Van de Peer 2002). Para maximizar o poder estatístico da análise, este procedimento não foi realizado nas subespécies com número de populações amostradas menor que seis.

O teste de Mantel tem sido criticado devido a elevada taxa de erro tipo I sob efeito da autocorrelação espacial entre os preditores (Guillot & Rousset 2013). Para minimizar este efeito, avaliamos a relação direta entre variáveis climáticas (bio_1, bio_4, bio_12 e bio_15; coeficiente de correlação < 0,50) e espaciais (altitude – ALT, longitude – LONG, latitude – LAT) na variabilidade morfológica associada com tamanho (ED) e forma (D2_m) utilizando modelos de regressão múltipla com quadrados ordinários mínimos (OLS). Para levar em conta as tendências latitudinais não lineares, incluímos latitude e latitude² nos modelos, entretanto

ajustes quadráticos não melhoraram o poder explicativo desse preditor. Também incluímos o autovetor dominante (conhecido como filtro espacial) da matriz de distância geográfica (latitude e longitude) como uma variável preditora adicional (Griffith & Peres-Neto 2006; Hawkins 2012). Esse autovetor explicou 92% da variância total na matriz de distância geográfica, e permitiu a representação das relações espaciais entre as populações em diferentes escalas espaciais. Nenhum dos outros autovetores (8% da variância) foi significativo, quando incluído nas análises de regressão. Entre todos os 502 modelos de regressão múltipla possíveis a partir da combinação de todas as variáveis independentes (climáticas – bio_1, bio_4, bio_12 e bio_15; espaciais – ALT, LONG e LAT; e fisiológica – S/V), selecionamos o conjunto de modelos de melhor ajuste com base no valor do critério de informação Akaike (AIC_c). Colinearidade entre as variáveis independentes nesses modelos foi insignificante (VIF < 3). Para quantificar a importância relativa dos diferentes preditores, assumimos os pesos de Akaike (w_i) para cada preditor em todos os modelos no qual este ocorreu (Burnham & Anderson 2002); quanto maior este valor, mais importância uma variável tem em relação às outras variáveis utilizadas nos modelos. Para distinguir a variabilidade morfológica nas populações que pode ser atribuída a diferentes preditores (p.e. variância explicada pelo clima desconsiderando os preditores espaciais e vice-versa; ou efeito puro de cada partição, Hawkins 2012), empregamos modelos de Regressão Parcial (Legendre & Legendre 2012). Todas essas análises foram realizadas no programa SAM v4.0 (Rangel et al. 2010). Devido ao pequeno número de populações amostradas na maioria das espécies e táxons infraespecíficos ($n < 9$), o que minimizou sobremaneira o poder estatístico das análises, estas foram empregadas em todo o complexo *M. oreas* (CMO), na espécie *M. ernestii* e no táxon infraespecífico *M. ernestii* subsp. *ernestii*. Neste caso, e assumindo o possível efeito de um forte viés taxonômico ao analisarmos todo o complexo, comparamos o

poder dos preditores ou suas diferenças entre o complexo e a espécie e subespécie de *M. ernestii*.

RESULTADOS

Caracteres discriminantes e estruturação morfológica populacional

Os resultados das estatísticas descritivas dos caracteres para cada táxon estão apresentados na Tabela S3. A média de nenhum dos caracteres foi significativamente diferente entre todos os táxons infraespecíficos. Mesmo apresentando diferenças significativas entre grupos de táxons, todos os caracteres apresentaram algum nível de sobreposição. Os caracteres que melhor diferenciaram os táxons infraespecíficos foram: comprimento do espinho inferior (#24), relação S/V (#25), número de espinhos por aréola (#17), profundidade da costela (#12) e número de aréolas (#8) (Tabela S3, Fig. S2).

A partir dos modelos de efeitos mistos realizados em cada descritor morfológico, a quantidade de variabilidade fenotípica explicada pelas populações variou entre os caracteres estudados (Fig. S3). Avaliando as 34 populações do complexo *M. oreas* simultaneamente, a maioria dos descritores foi mais variável entre populações do que dentro delas, com exceção dos descritores altura vegetativa (#2), largura do cefálio (#3) e número de costelas pequenas (#7). Avaliando os táxons separadamente, os caracteres relacionados com número e tamanho de espinhos e número de aréolas foram mais variáveis entre populações, com exceção dos táxons coespecíficos de *M. bahiensis*, com maior variação entre plantas dentro das populações (Fig. S3).

A partir da MANOVA, observamos diferenças significativas entre as populações do complexo em relação aos caracteres vegetativos analisados (λ de Wilks $< 0,0001$; $F_{(462, 5.103)} = 19,90$; $P < 0,001$). Cerca de 92% dos espécimes ($n = 404$) foram classificados corretamente nas populações determinadas *a priori* com probabilidade média de $0,86 \pm 0,10$ (Tabela S4).

Apenas 34 espécimes foram classificados incorretamente, sendo que 27 ocorreram entre populações do mesmo táxon e sete entre táxons interespecíficos distintos (Tabela S4).

Elevada estruturação morfológica foi encontrada para *M.b. bahiensis*, *M.e. ernestii* e *M.e. longicarpus* e moderada para *M.o. oreas* e *M.o. cremnophilus* ($A_{MRPP} = 0,297; 0,290; 0,216; 0,128; 0,127$; respectivamente) e baixa estruturação em *M.b. amethystinus* ($A_{MRPP} = 0,073$). As populações apresentaram elevada amplitude da distância euclidiana média (ED): MeeMa (77,24) população com o maior valor, seguida por MelU (65,56) e MeeBMD (59,63), e a população McoVC (26,87) seguida por MbbSe (27,52) e MeeVC (30,01) com menor valor (Tabela S4). Elevada amplitude da distância generalizada de Mahalanobis ($D2_m$) foi observada nas populações do complexo: maior valor encontrado em MeeBMD (18,07) seguida por MelPo (17,83) e MbaBA (17,67) e menor valor na população MbbSe (3,26) seguida por MeeVC (5,82) e MeeIp (6,14) (Tabela S4).

Na análise de variáveis canônicas, após critério da raiz latente dos autovalores da CVA, os cinco primeiros eixos (86,08% da variância) foram adequados para discriminação das populações do complexo *M. oreas*. O primeiro eixo (45,69% da variância; Fig. 1A; Fig. S4) separa as populações do complexo *M. oreas* em três grupos: GI, *M. conoideus*; GII, contendo as populações dos táxons de *M. oreas* e *M. bahiensis*; com exceção da população MocJ (mais relacionada ao GIII), e GIII, relativo aos táxons infraespecíficos de *M. ernestii*. As populações contidas no GIII apresentaram maior comprimento do espinho radial inferior e maior número de espinhos por aréola (variáveis #24 e #17) quando comparadas com as populações do GII (Tabela S5). Neste mesmo eixo, separa as populações MbbRB e MbbSe de *M.b. bahiensis* entre si e das demais populações coespecíficas e *M. conoideus* de todas as populações do complexo. O 2º eixo (20,85%; Fig. 1B; Fig. S4) apresenta correlação negativa com os caracteres #24 e número de costelas (#6) segregando as populações dos táxons infraespecíficos de *M. ernestii*, e as populações de *M. oreas* das de *M. bahiensis*. A população

MelPo se distingue das demais de *M.e. longicarpus* (Fig. 1B). O 3° eixo (8,38%; Fig. S4) apresenta correlação negativa com as variáveis #17 e número de aréolas (#8), e positiva com o comprimento do espinho radial (#23) e distância entre aréolas (#14), separando *M. conoideus* de todas as populações e discriminando moderadamente a população MeeIa do grupo constituído por *M. oreas*+*M. bahiensis*, e MbbBE das demais populações de *M.b. bahiensis*. O 4° eixo (7,81%; não mostrado) discrimina a população MeeDB e MbbRB de suas populações coespecíficas sob influência dos caracteres #8, diâmetro do espinho central (#20) e relação superfície:volume (#25). O 5° eixo (5,24%; não mostrado) separa a população MelRA e MelPo das demais coespecíficas sob maior influência dos caracteres #8 e profundidade da costela (#12) (Tabela S5).

Todas as comparações entre os pares dos centróides das populações a partir das distâncias Generalizadas de Mahalanobis (D2) foram diferentes estatisticamente ($P < 0,0001$). A relação entre os grupos morfológicos observados na CVA se reflete no dendrograma UPGMA das Distâncias de Mahalanobis (Fig. 2) com a população McoVC mais distinta de todas as populações do complexo. As demais populações podem ser separadas em dois grupos principais: (G1) inclui as populações de *M.e. ernestii* e *M.e. longicarpus* e a população MocJ; (G2) inclui as populações de *M.o. oreas*, *M.o. cremnophilus*, *M.b. bahiensis* e *M.b. amethystinus* e a população Meela. O G1 pode ser dividido em quatro subgrupos: o 1° constituído por apenas MelPo, o 2° constituído por MeeDB, 3° englobando todas as populações de *M.e. longicarpus* junto com a população MocJ e três populações de *M.e. ernestii* (i.e. MeePA, MeeVC e MeeBE), e 4° constituído por oito populações de *M.e. ernestii*. O G2 apresenta dois subgrupos: o primeiro contendo as populações de *M. bahiensis*, com exceção de MbbSe, e o segundo que compreende as populações de *M. oreas* (exceto Mocj) e inclui também as populações MeeIa e MbbSe (Fig. 2a). Os grupos observados nessas análises foram similares quando utilizamos o algoritmo Neighbour-joining (NJ), mas com uma maior

correspondência dos grupos e subgrupos com as subespécies (Fig. 2b). Nesse caso, as populações MeePA, MeeDB e MeeBE de *M.e. ernestii*, e MelPo de *M.e. longicarpus*, foram inseridas corretamente no grupo correspondente aos seus táxons. As populações de *M. bahiensis* permaneceram com baixa resolução.

Determinantes climáticos e espaciais da variabilidade morfológica

A partir dos testes de correlações parciais de Mantel entre distância morfológica (D2) e complexidade topográfica (TOPO), distância perpendicular (DEP) e distância euclidiana ambiental (DAM), não observamos nenhum efeito em D2 para o complexo *M. oreas*, e para as espécies *M. bahiensis* e *M. oreas* (Tabela 1). Em *M. ernestii* e *M.e. subsp. ernestii*, no entanto, TOPO teve uma associação positiva com D2. Além disso, DEP foi associada positivamente com D2 em *M. ernestii* (Tabela 1).

A métrica $D2_m$ de variabilidade morfológica aumentou significativamente a partir da área central da distribuição (ou área core) com o aumento da latitude no complexo *M. oreas* (Tabela 2), com as populações dos extremos de distribuição apresentando maior variabilidade morfológica que as centrais (Tabela S4). A métrica ED, no entanto, foi maior nas populações mais próximas do equador (ED; Tabela 2). Resultados similares foram observados para os demais táxons (Tabela 2). O autovetor espacial, que descreve as relações de distâncias entre as populações, influenciou positivamente as métricas $D2_m$ e ED (Tabela 2). Os preditores espaciais e climáticos tiveram efeitos significativos, mas a sua importância variou em função da métrica de variabilidade (Tabela 3). A maioria dos modelos explicaram mais de 50% da variância encontrada nas métricas de variabilidade morfológica ($D2_m$ e ED) e a retirada dos preditores espaciais reduziu substancialmente o ajuste dos modelos. A partir do critério de peso de Akaike (w_i), os dois preditores mais importantes para $D2_m$ e ED no complexo *M. oreas* foram a relação espacial ou autovetor e o coeficiente de variação da precipitação (Fig.

3). Valores elevados de variabilidade foram relacionados positivamente com estes dois preditores. Relações similares de importância dos preditores foram obtidas pelos testes de correlações parciais (Fig. S5).

Com base nas análises particionadas da variância (Fig. 4), o clima explicou a maior parte da variação observada na variabilidade morfológica $D2_m$, e o espaço representou o maior componente de variação de ED (Fig. 4). A variável fisiológica S/V explicou 39% da variação em $D2_m$ observada na espécie *Melcactus ernestii*. No geral, a maior parte da variação observada nas métricas de variabilidade morfológica é explicada quando consideramos os dois componente (espacial e climático) simultaneamente (Fig. 4). De fato, populações que ocupam ambientes com maior sazonalidade na precipitação (bio_15) e mais distantes geograficamente (AE) apresentam maior variabilidade na forma e no tamanho de caracteres, e em função disso valores mais elevados de variabilidade morfológica.

Em modelos de regressão múltipla que incorporaram interações entre os preditores, encontramos efeito fraco na interação clima x espaço para $D2_m$ ($r^2 = 0,229$; $P = 0,005$) e interação não significativa em ED ($r^2 = 0,066$; $P = 0,149$) no complexo *M. oreas*. As interações não foram significativas para a espécie *M. ernestii* (ED, $P = 0,891$; $D2_m$, $P = 0,102$).

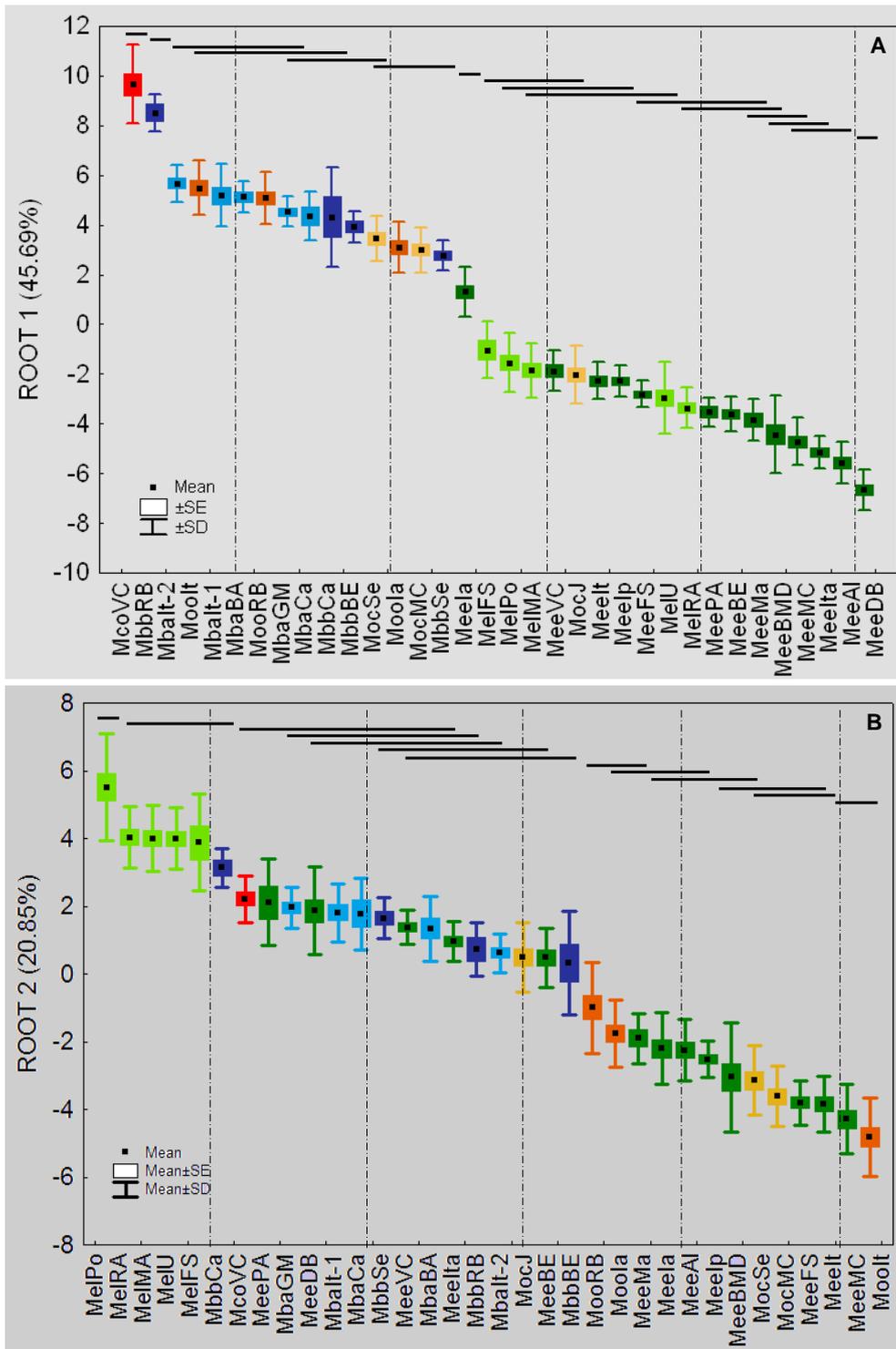


Figura 1 Gráficos dos dois primeiros eixos da CVA (Root 1, 45,69%; Root 2, 20,85%) obtidos a partir de 15 caracteres morfológicos em 34 populações do complexo *Melocactus oreas*, apresentando média, erro padrão e desvio padrão para cada população. Todos os caracteres avaliados apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre as populações e distintos níveis de sobreposição. As barras horizontais ao longo do topo de cada gráfico mostram os resultados do teste de Student–Newman–Keuls *post hoc*, com cada barra ligando populações que não foram significativamente diferentes uma das outras ($P > 0,05$). As populações estão dispostas na ordem de decaimento das médias. Para nomes das populações, ver Tabela S1. Para loadings das variáveis mais explicativas a partir dos escores canônicos, ver Tabela S5.

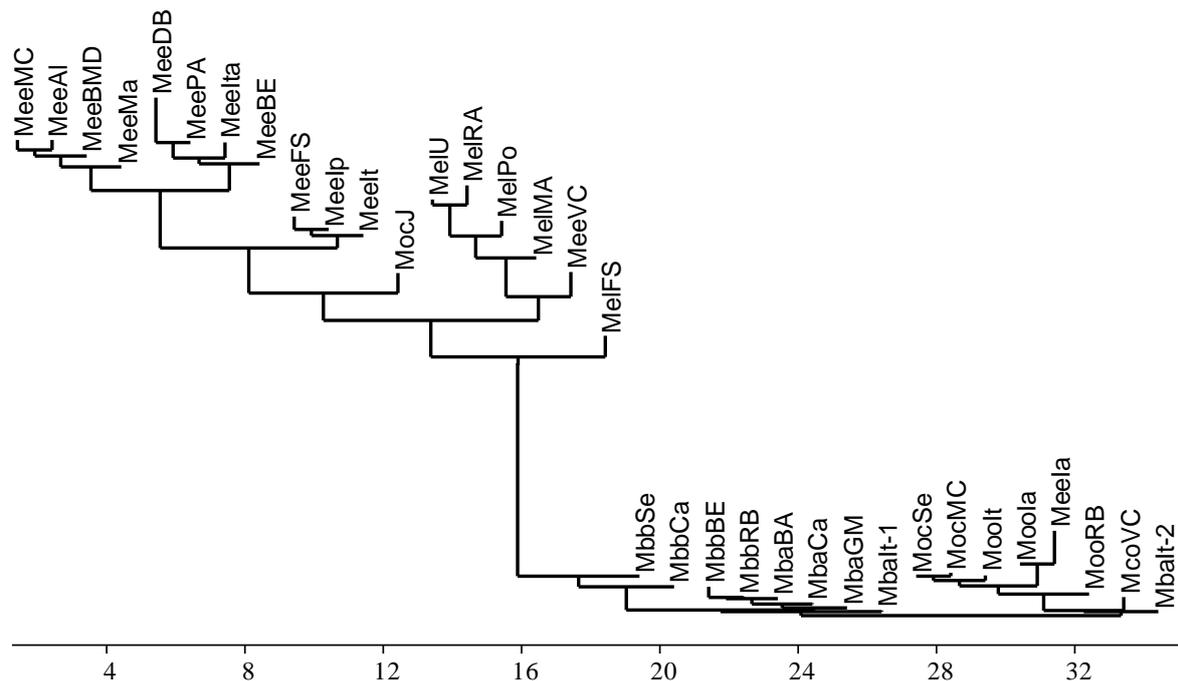
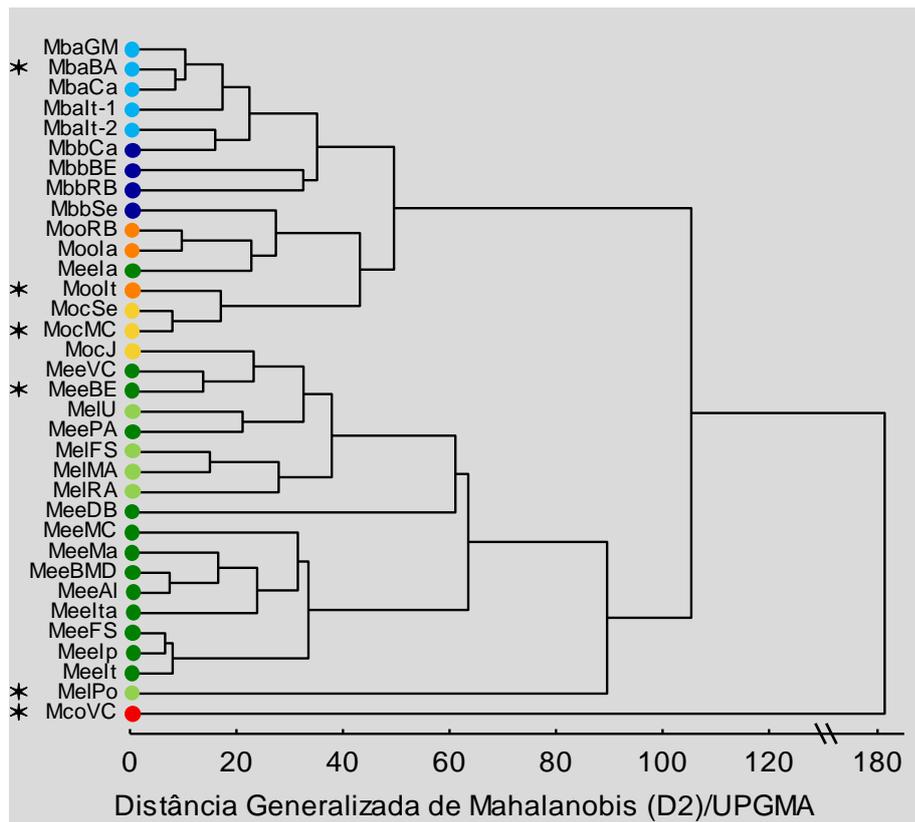


Figura 2 Dendrograma demonstrando a relação fenética entre populações do complexo *Melocactus oreas* ocorrentes no leste do Brasil, construído a partir da matriz de distância generalizada de Mahalanobis (D2) e UPGMA e neighbour joining como algoritmos de agrupamento. Baseado em 15 caracteres morfológicos vegetativos em 34 populações. Correlação cofenética = 0,75; $P < 0,001$. * indicam as populações amostradas nas localidades onde os holótipos dos respectivos táxons foram coletados. Ver Tabela S1 para nomes das populações.

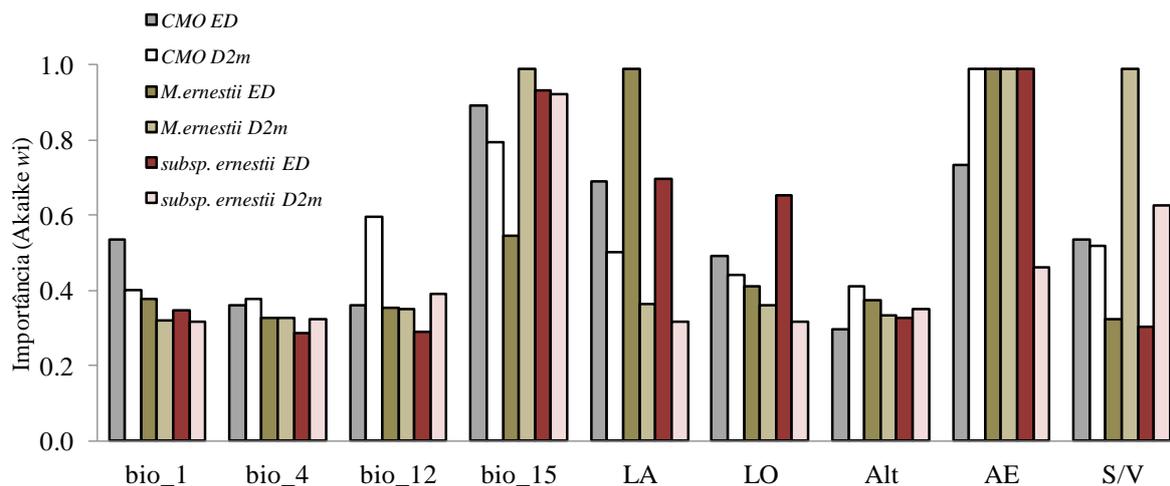


Figura 3 Importância relativa dos preditores climáticos e espaciais nos modelos de variabilidade morfológica. A altura de cada barra representa a soma dos pesos de Akaike (w_i) de todos os modelos que incluíram o preditor de interesse. Modelos e abreviaturas dos preditores como na Tabela 3.

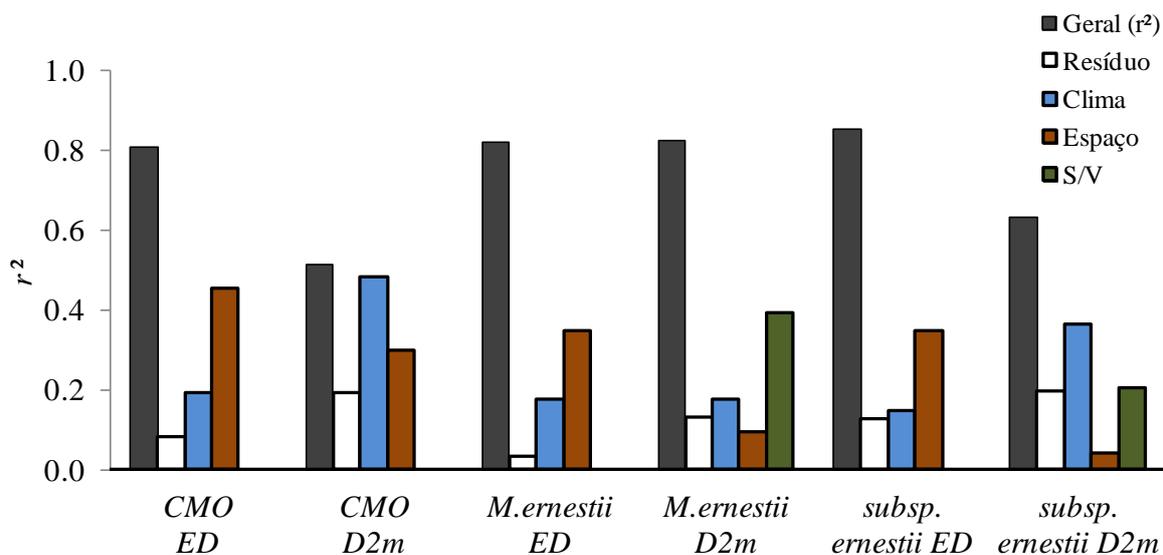


Figura 4 Particionamento da variância dos quadrados ordinários mínimos (OLS) do melhor modelo de regressão da Tabela 3 para as variáveis climáticas (bio_1, bio_4, bio_12, bio_15), espaciais (autovetor espacial dominante, latitude, longitude, altitude) e S/V como preditores da variabilidade morfológica (D2_m e ED) nas populações do complexo *Melocactus oreas* e da espécie *M. ernestii* e na subespécie *M.e. subsp. ernestii*.

Tabela 1 Coeficientes de correlação parcial de Mantel (Mantel r) e valores de P a partir dos modelos causais. TOPO = matriz de complexidade topográfica, D2 = matriz de distância morfológica, DEP = matriz de distância altitudinal, DAM = matriz de distância ambiental. Valores em negrito utilizados quando todas as combinações são significativas. ‘X’ indica a correlação entre duas matrizes, e o ponto indica a terceira covariável que foi controlada.

Espécie	Mantel Parcial	r	P -valor
Complexo <i>M. oreas</i>	TOPO x D2.DEP	-0,001	0,552
	TOPO x D2.DAM	-0,010	0,464
	DEP x D2.TOPO	0,049	0,246
	DEP x D2.DAM	0,063	0,209
	DAM x D2.TOPO	-0,050	0,219
	DAM x D2.DEP	-0,063	0,154
<i>Melocactus ernestii</i>	TOPO x D2.DEP	0,312	0,001
	TOPO x D2.DAM	0,243	0,009
	DEP x D2.TOPO	0,315	0,005
	DEP x D2.DAM	0,224	0,039
	DAM x D2.TOPO	0,156	0,051
	DAM x D2.DEP	0,116	0,122
<i>M. oreas</i>	TOPO x D2.DEP	-0,440	0,165
	TOPO x D2.DAM	-0,503	0,944
	DEP x D2.TOPO	0,199	0,268
	DEP x D2.DAM	0,595	0,067
	DAM x D2.TOPO	-0,107	0,361
	DAM x D2.DEP	-0,532	0,108
<i>M. bahiensis</i>	TOPO x D2.DEP	-0,469	0,004
	TOPO x D2.DAM	-0,308	0,081
	DEP x D2.TOPO	-0,415	0,014
	DEP x D2.DAM	-0,217	0,230
	DAM x D2.TOPO	-0,182	0,162
	DAM x D2.DEP	-0,201	0,153
<i>M.e. subsp. ernestii</i>	TOPO x D2.DEP	0,437	0,004
	TOPO x D2.DAM	0,410	0,005
	DEP x D2.TOPO	0,169	0,138
	DEP x D2.DAM	0,056	0,337
	DAM x D2.TOPO	0,059	0,279
	DAM x D2.DEP	0,070	0,231

Tabela 2 Valores Beta das regressões múltiplas por quadrados ordinários mínimos (ordinary least squares - OLS) das métricas de variabilidade morfológica (ED e D2_m) vs altitude e latitude para 34 populações do complexo *Melocactus oreas* e para as espécies separadamente no leste do Brasil. O autovetor dominante espacial da matriz de distância geográfica serviu como co-variável adicional.

	Complexo <i>M. oreas</i>		<i>M. ernestii</i>		<i>M. bahiensis</i>		<i>M. oreas</i>		<i>M. ernestii</i> subsp. <i>ernestii</i>	
	ED	D2 _m	ED	D2 _m	ED	D2 _m	ED	D2 _m	ED	D2 _m
Latitude	0,137**	-0,148*** ^a	0,162**	-0,05	0,169*	-0,305	0,028	0,042*	0,148*	0,016
Altitude	-0,031	0,244*	0,047	0,287*	-0,026	0,365	0,154	0,447*	0,058	0,113
Autovetor espacial	1,042***	1,076***	0,986***	0,752	1,36	1,847*	0,699**	0,635**	0,859**	0,791
VIFm (modelo)	1,10 (0,05)	1,06 (0,04)	1,13 (0,01)	1,17 (0,02)	2,07 (0,60)	1,62 (0,36)	1,50 (0,09)	2,02 (0,24)	1,16 (0,13)	1,63 (0,34)
r ² (modelo)	0,733	0,488	0,789	0,388	0,84	0,877	0,761	0,867	0,742	0,346
P (modelo)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,069	0,051	0,027	0,184	0,049	0,005	0,260

* $P < 0,05$

** $P < 0,01$

*** $P < 0,001$

^a latitude² proporcionou melhor ajuste ao modelo

VIFm, valor de inflação da variância médio e desvio padrão associado (SD).

Tabela 3 Modelos de regressão de melhor ajuste para as métricas de variabilidade intrapopulacional (ED e D2_m). Cada coluna representa uma variável preditora diferente. Dos 502 modelos possíveis, os quatro melhores são apresentados e classificados de acordo com o valor de AIC_c; quanto menor o seu valor, é mais provável que este modelo esteja correto. Células não sombreadas indicam variáveis que não foram incluídas em um modelo específico sob pena de inflacionamento da variância. VIF, valor de inflação da variância do modelo; ΔAIC_c, diferença entre AIC_c de cada modelo com o melhor modelo; w_i, pesos de Akaike. LA, latitude; LO, longitude; Alt, altitude; AE, autovetor espacial; S/V, relação superfície:volume. Análises conduzidas no complexo *Melocactus oreas* (CMO), na espécie *M. ernestii* e no táxon subspecífico *M. e.* subsp. *ernestii* (subsp. *ernestii*).

Táxons	Modelo	Climáticas				Espaciais				VIF	R ²	AIC _c	ΔAIC _c	w _i	
		bio_1	bio_4	bio_12	bio_15	LA	LO	Alt	AE						S/V
CMO (ED)	1										2,60	0,808	53,363	0	0,123
	2	■									7,67	0,820	54,539	1,176	0,068
	3										4,89	0,814	55,573	2,210	0,041
	4										3,51	0,814	55,627	2,264	0,040
CMO (D2 _m)	1										1,05	0,477	80,665	0	0,053
	2		■								1,95	0,514	81,036	0,371	0,044
	3		■								1,03	0,470	81,111	0,446	0,043
	4										1,51	0,509	81,406	0,740	0,037
<i>M. ernestii</i> (ED)	1										1,28	0,787	32,137	0	0,213
	2										2,74	0,823	32,735	0,598	0,158
	3		■								2,52	0,799	35,002	2,865	0,051
	4										4,30	0,843	35,237	3,100	0,045
<i>M. ernestii</i> (D2 _m)	1										1,88	0,824	24,497	0	0,403
	2										2,12	0,832	28,306	3,809	0,060
	3										1,02	0,729	28,361	3,864	0,058
	4										2,49	0,827	28,803	4,306	0,047
subsp. <i>ernestii</i> (ED)	1										1,88	0,853	30,104	0	0,209
	2										1,90	0,848	30,576	0,473	0,165
	3										1,11	0,739	32,009	1,906	0,081
	4										1,09	0,724	32,698	2,594	0,057
subsp. <i>ernestii</i> (D2 _m)	1										1,36	0,633	30,562	0	0,205
	2										1,00	0,365	31,874	1,312	0,106
	3		■								1,53	0,514	32,733	2,171	0,069
	4										1,00	0,320	32,765	2,203	0,068

DISCUSSÃO

Elevada estruturação morfológica e congruência taxonômica no complexo M. oreas

A partir dos 15 caracteres quantitativos empregados nas análises multivariadas, corroboramos a existência das quatro espécies atualmente reconhecidas do complexo *Melocactus oreas*, assim como todas as sinonimizadas sugeridas por Taylor & Zappi (2004) (veja Tabela S1). Em geral, os seis táxons subespecíficos do complexo *M. oreas* podem ser reconhecidos pelos caracteres de tamanho e número de espinhos, e número de aréolas e costelas, apesar da necessidade de revisão do posicionamento de algumas populações nesses táxons. Esses caracteres foram consistentes com os determinados por Taylor & Zappi (2004) para reconhecimento das subespécies do complexo, e apresentaram os valores mais altos nos três primeiros eixos canônicos. Adicionalmente, confirmamos a presença de indivíduos intermediários a partir da análise de discriminantes e sobreposição dos caracteres entre os táxons coespecíficos (Taylor 1991; Taylor & Zappi 2004).

Outros estudos com cactos também detectaram sobreposição de variação morfológica entre variedades de *Escobaria sneedii* (Baker & Johnson 2000) e subespécies de *Discocactus zehntneri* (Machado 2005; Machado et al. 2005), sugerindo uma relação taxonômica mais próxima entre os táxons e manutenção do status taxonômico subespecífico. No entanto, em outros estudos de cactáceas, não foi possível o reconhecimento de táxons subespecíficos, uma vez que as análises empregadas não sustentaram padrões intermediários de variação [p.e. *Escobaria guadalupensis* (Baker & Johnson 2000), *Coryphantha rubustispina* (Schmalzel et al. 2004), *Discocactus catingicola* e *D. bahiensis* (Machado 2005; Machado et al. 2005), *Opuntia cantabrigiensis* (Muñoz-Urias et al. 2008), *Neobuxbaumia mezcalaensis* e *N. multiareolata* (Arroyo-Cosultchi et al. 2010)].

Algumas populações designadas para os táxons do complexo *M. oreas*, entretanto, devem ser melhor enquadradas para sustentar a divisão subespecífica da atual circunscrição.

Por exemplo, a separação entre *M. oreas* subsp. *oreas* e *M.o. cremnophilus* (Moc), relacionada com o número de costelas e um componente altitudinal (Taylor & Zappi 2004), não foi consistente com a variabilidade observada na população MocJ (localidade de Lajes, Jacobina – Bahia). Segundo Mauseth (2000) o número de costelas reflete a capacidade de armazenamento de água e por isso uma possível adaptação local para a quantidade de chuva, o que pode introduzir um componente importante de plasticidade fenotípica. Os caracteres relativos a espinho (#17, #20 e #24) permitiram reconhecer a população McoJ como pertencente à espécie *M. ernestii* e não a *M. oreas* como assinalado por Taylor & Zappi (2004). Com base nesses resultados a distribuição do táxon Moc ficaria ainda mais restrita pelo componente altitudinal (900 - 1100 m). Essa população também foi associada com a área do modelo de nicho climático de *M.e.* subsp. *ernestii* (Capítulo 3).

As populações de *M. bahiensis* subsp. *amethystinus* foram menos estruturadas morfologicamente ($A_{MRPP} = 0,073$) que as populações de *M.b. bahiensis* (Mba, $A_{MRPP} = 0,297$), e com maior variação dentro do que entre populações. Esse comportamento da variabilidade fenotípica pode estar associado com a elevada similaridade climática interpopulacional (~86%; Capítulo 3) e dispersão em longas distâncias. Nesse caso, o efeito de regimes similares de seleção entre as populações dos pares coespecíficos de *M. bahiensis* reforçaria o sucesso no estabelecimento de fenótipos similares entre as populações (Wiens et al. 2010; Alvarado-Cárdenas et al. 2013). No entanto, a hipótese dispersiva por longas distâncias (Taylor & Zappi 2004) ainda precisa ser testada. Por outro lado, a maior variação fenotípica dentro das populações pode ser atribuída ao sistema reprodutivo preferencialmente alógamo (Colaço et al. 2006; Gomes et al. 2013) e heterogeneidade do microhabitat (Capítulo 2), que favoreceriam a manutenção da elevada variabilidade de alguns caracteres vegetativos. Em síntese, observamos um padrão fenotípico complexo nas populações de *M.b. bahiensis*, como indicado por Taylor & Zappi (2004), reforçando a necessidade de uma maior

investigação da variação fenética na sua área de ocorrência (Capítulo3), principalmente no extremo sul da distribuição onde se evidencia mais claramente uma transição morfológica para a outra subespécie, *M.b. amethystinus*.

Melocactus ernestii apresentou-se hipervariável, com maior variação dos caracteres entre populações, principalmente para as variáveis relacionadas a espinhos e número de aréolas. As subespécies de *M. ernestii* compartilham o mesmo número de costelas pequenas (#7), altura e distância entre costelas (#12, #13), distância entre aréolas (#14) e comprimento dos espinhos radiais (#22, #23), além disso a amplitude de variação na maioria dos caracteres em *M.e. ernestii* engloba a variação registrada nesse estudo e por Taylor & Zappi (2004) em *M.e. longicarpus*. Entretanto, *M.e. ernestii* pode ser diferenciada de *M.e. longicarpus* por seu maior comprimento do espinho radial inferior (#24; 51,9 – 114,5 mm vs 33,3 – 74,2 mm), maior largura das aréolas (#16; 3,6 – 12,2 mm vs. 5,1 – 9,5 mm), e menor número de espinhos por aréola e espinhos centrais.

Algumas populações determinadas como *M.e. ernestii* por Taylor & Zappi (2004) apresentaram comportamento anômalo ao padrão do tipo da espécie. Por exemplo, as populações, MeeVC e MeeIa a partir do número de espinhos por aréola (#17) e de espinhos centrais (#18), foram mais próximas do padrão determinado para *M.e. longicarpus* e *M.o. oreas*, respectivamente. As demais populações de *M.e. ernestii* apresentaram uma estruturação altitudinal associada a forma das plantas. Neste caso, populações acima de 600 m (MeeMC, MeeMa, MeeAl) e nos extremos de distribuição (MeeIta), foram constituídas de indivíduos maiores, enquanto que em altitudes abaixo de 400 metros os indivíduos eram menores (MeeFS, MeeIp, MeeIt). Essa variação também se refletiu nos níveis de estruturação morfológica observados em *M.e. ernestii* – Mee ($A_{MRPP} = 0,290$) e *M.e. longicarpus* – Mel ($A_{MRPP} = 0,216$), e pode estar associado com a baixa similaridade ambiental observada entre as populações de Mee (57%) e Mel (60%) (Capítulo 3). A maior similaridade morfológica

entre as populações sintópicas MeeIa e MooIa ($D2 = 10,81$) quando comparada com as demais populações coespecíficas ($D2 \approx 50$), refletida nos erros de classificação observados entre essas populações, sugere a ocorrência de hibridização e introgressão, o que é comum em cactáceas (Lambert et al. 2006a,b; Machado 2008). Alternativamente, isto também pode ser devido à seleção natural mediada ecologicamente.

Por fim, a espécie *M. conoideus* é claramente distinta das demais espécies do complexo *M. oreas*. Essa distinção não reflete apenas os menores valores observados de comprimento de espinhos, como também a sua ocorrência em cascalho de quartzo, um habitat muito distinto ecologicamente do encontrado para as demais espécies do complexo *M. oreas*.

Efeitos climáticos e espaciais na variabilidade morfológica do complexo M. oreas

Avaliando os táxons separadamente, encontramos associação positiva entre a distância morfológica entre as populações de *M. ernestii* com a complexidade topográfica e distância altitudinal. Nesse caso, populações com menor complexidade na paisagem e menor diferença altitudinal entre si apresentaram menor distância morfológica. As demais espécies do complexo *M. oreas* não apresentaram associação significativa nos testes de correlação parcial de Mantel. No entanto, encontramos tendências latitudinais, altitudinais e de distâncias entre as populações (autovetor espacial), para pelo menos uma das métricas de variabilidade morfológica (ED e $D2_m$) a partir das análises dos quadrados ordinários mínimos (OLS). Os diferentes resultados obtidos com os testes parciais de Mantel e análises de OLS podem ser consequência da perda de informação da variabilidade interna da população ($D2_m$) ao usar uma medida multivariada das semelhanças em correlações de Mantel, no caso a distância generalizada de Mahalanobis ($D2$). Padrões espaciais similares de distribuição da variabilidade foram sugeridos nos estudos realizados por Nakazato et al. (2008) em populações de *Solanum pimpinellifolium* nos Andes, por Paiaro et al. (2012) em populações

de *Anarthrophyllum desideratum* na Patagônia, e por Fregonezi et al. (2013) em *Petunia* e *Calibrachoa*. Em todos os estudos, divergência fenotípica substancial foi observada entre as populações, e caracteres morfológicos exibiram padrão clinal de variação geográfica e associação com fatores climáticos e edáficos.

Não há estudos com espécies de cactos que avaliaram os efeitos climáticos e geográficos na variabilidade morfológica dentro e entre populações de cactos. Além disso, investigações sobre a estruturação espacial (teste de Mantel) são raras em *Melocactus* (Lambert et al. 2006a) e em Cactaceae (Machado 2005; Machado et al. 2005), o que minimiza sobremaneira análises comparativas. Por exemplo, Lambert et al. (2006a) e Machado (2005), avaliando a variabilidade morfológica em populações de *M. paucispinus* e dos complexos de espécies de *Discocactus*, respectivamente, observaram associações significativas entre as matrizes de distância de Mahalanobis (D2) e a distância geográfica entre populações. No entanto, nós encontramos que as distâncias ambientais e topográficas entre as populações no complexo *M. oreas* não correspondem às distâncias morfológicas (D2) observada. Esse resultado pode estar refletindo apenas a ocorrência sintópica ou em localidades muito próximas de táxons com elevada distância morfológica no espaço multivariado. Nesse caso, observamos efeitos positivos entre a complexidade topográfica e D2 em *M. ernestii* e na subsp. *ernestii*; as outras espécies apresentaram valores elevados de associação, mas o número reduzido de populações ($n < 8$) reduziu o poder estatístico da análise. Mesmo a distância ambiental não sendo associada com a distância morfológica entre as populações de todos os táxons, revelamos a partir das análises de correlação que as medidas de variabilidade morfológica foram positivamente associadas com variáveis climáticas (precipitação anual, sazonalidade da precipitação). Certamente, diferentes mecanismos influenciam o padrão marcadamente alopátrico dos táxons do complexo *M. oreas* e a estruturação geográfica da variabilidade fenotípica das espécies.

Os componentes espaciais e ambientais investigados, aparentemente, foram fatores decisivos na diferenciação fenotípica encontrada nos táxons do complexo *M. oreas*, o que é concordante com as expectativas do isolamento por distância (Wright 1943) e pelo isolamento ambiental ou ecológico (Schluter 2009). Essa diferenciação estava associada com a complexidade topográfica e diminuição da temperatura ($r = 0,52$; $P < 0,001$; Capítulo 3) e aumento da sazonalidade da precipitação ($r = 0,68$; $P < 0,001$; Capítulo 3) em latitudes mais altas a partir do equador no leste do Brasil. Todos os táxons do complexo *M. oreas* são polinizados por beija-flores e suas sementes são dispersas por lagartos, ambos territorialistas (Colaço et al. 2006; Gomes et al. 2013; F.M. Hughes, obs. pess.). Nesse sentido, o fluxo de pólen e sementes é escasso entre populações, o que poderia explicar a elevada estruturação espacial da variabilidade morfológica. Por outro lado, hipotetiza-se que as aves atuem como dispersores de sementes em longas distâncias (Taylor 1991), dessa forma, a elevada heterogeneidade ambiental e o padrão disjunto entre populações dos pares coespecíficos do complexo *M. oreas* (Capítulo 3) atuariam como força estruturadora da variabilidade morfológica encontrada no complexo, por reforçar o sucesso no estabelecimento de fenótipos adaptados às condições locais (Sexton et al. 2014).

As métricas de variabilidade morfológica ($D2_m$ e ED) apresentaram tendências latitudinais distintas. Por exemplo, $D2_m$ aumentou e ED diminuiu, ambas significativamente, com o aumento da distância do equador. Além disso, populações com valores mais altos de $D2_m$ foram localizadas em habitats acima de 800 metros. Populações com plantas maiores ocupam habitats mais distantes do equador e populações com espinhos maiores ocupam latitudes menores. Em síntese, a interpretação dos padrões espaciais da variabilidade morfológica pode depender da métrica escolhida, reforçando a importância do uso de várias métricas. Adicionalmente, também demonstramos que a variabilidade morfológica não foi relacionada estritamente com a distância geográfica e efeito altitudinal e latitudinal. Além

desses efeitos, a variabilidade morfológica apresentou forte componente climático na sua estruturação, principalmente sob efeito da sazonalidade da precipitação (Tabela 3; Fig. 3).

A partir das análises de partição da variância explicativa dos modelos múltiplos (OLS) também demonstramos que o clima e o espaço são fatores importantes para a variabilidade morfológica no complexo *M. oreas* (Tabela 3; Fig. 4). Por exemplo, as métricas ED foram sempre mais influenciadas pela distância entre populações e tendências latitudinais, e menos pelos preditores climáticos; e as métricas D2_m foram mais influenciadas pelos preditores climáticos seguido pelos preditores espaciais. Entretanto, a interação entre os preditores espaciais e climáticos não apresentaram efeitos significativos e/ou explicaram muito pouco a variância do modelo (23%). Nesse sentido, sugerimos que o isolamento por distância e o isolamento ambiental agem de forma independente um do outro e afetam aspectos distintos da variabilidade morfológica e organização espacial dos táxons.

Finalmente, os padrões de divergência fenotípica interespecífica apresentados neste estudo, juntamente com os padrões de divergência de nicho ecológico observado entre os pares coespecíficos do complexo *M. oreas* (Capítulo 3), reforçam o status taxonômico atual do complexo *M. oreas* e a importância ambiental e espacial nessa divergência. No entanto, associações detectadas entre fenótipos e variáveis ambientais e espaciais podem não implicar necessariamente em relações de causalidade, o que nesse caso requer estudos dissociativos (p.e., análise fenotípica em condições controladas, experimentos de translocação). Todavia, isso é relativamente difícil por se tratar de espécies de crescimento lento, o que requer um maior corpo de evidências a partir de dados independentes (p.e. estruturação genética nuclear e/ou plastidial). Podemos concluir provisoriamente que, a partir da diferença observada na preferência do nicho ecológico ocupado pelos táxons, a divergência de nicho foi o modelo especiativo prevalente no complexo *M. oreas*, e que pode ter atuado como fator direcionador do padrão divergente de certos caracteres fenotípicos.

Agradecimentos – Agradecemos a Nigel P. Taylor e Marlon C. Machado pela confirmação taxonômica das espécies. A Nigel P. Taylor pela revisão do manuscrito. A Antônio Massensini Jr. pelo suporte em campo. Este trabalho recebeu suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq - 014/2010). FMH recebeu bolsa de doutorado da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES). E.L.B. e C.M.J. têm bolsa de produtividade em pesquisa do CNPq.

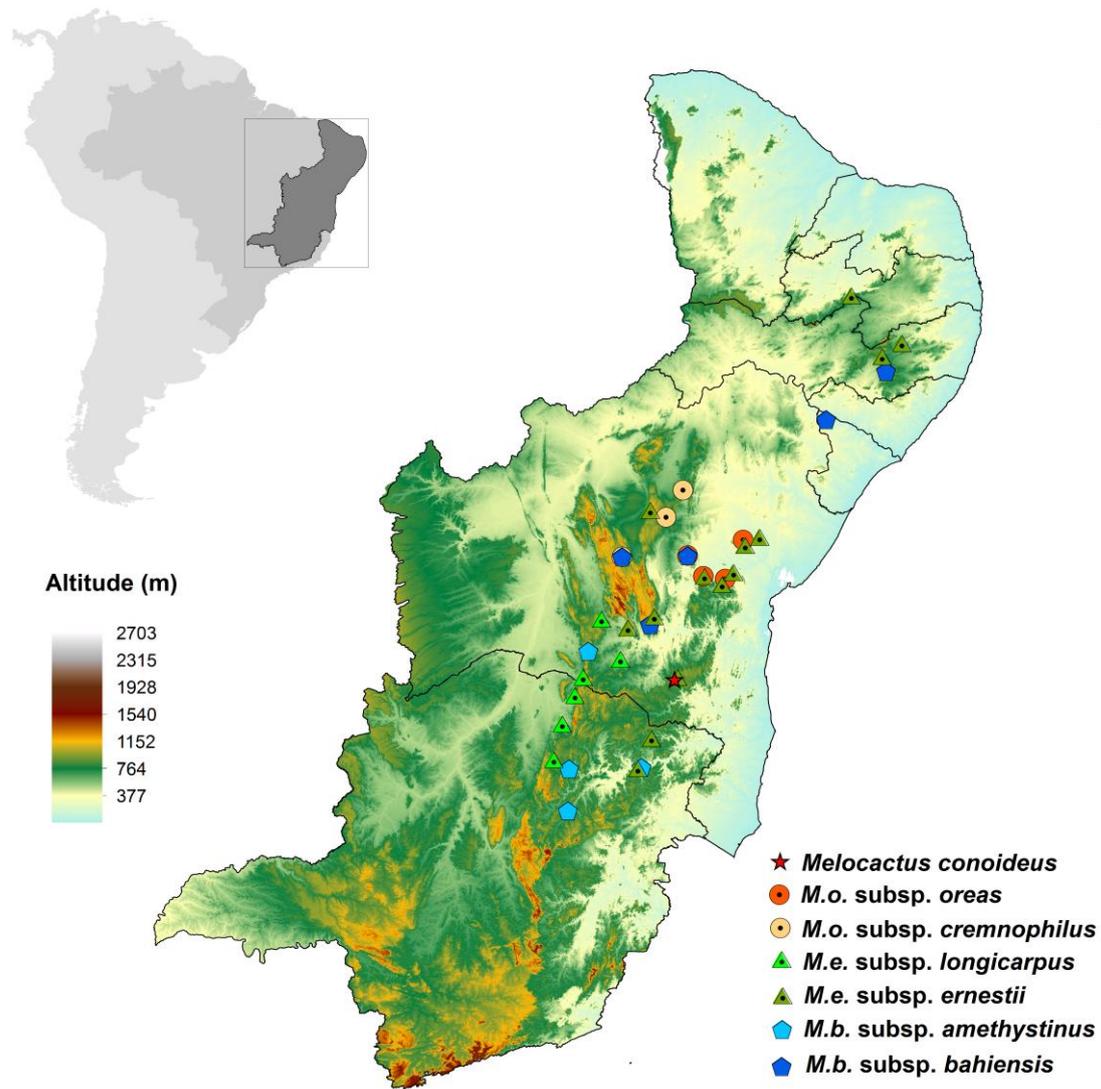


Figura Suplementar 1. Mapa indicando os locais de coleta de dados morfológicos nas populações do complexo *M. oreas*, com altitudes variando de 192 a 1.179 m e abrangendo toda a amplitude geográfico-ecológica das espécies. As populações nas quais foram coletados os holótipos de todos os nomes específicos e infraespecíficos envolvidos no sistema de classificação atual foram incluídas, com exceção de *M.b. bahiensis* (ver Tabela S1).

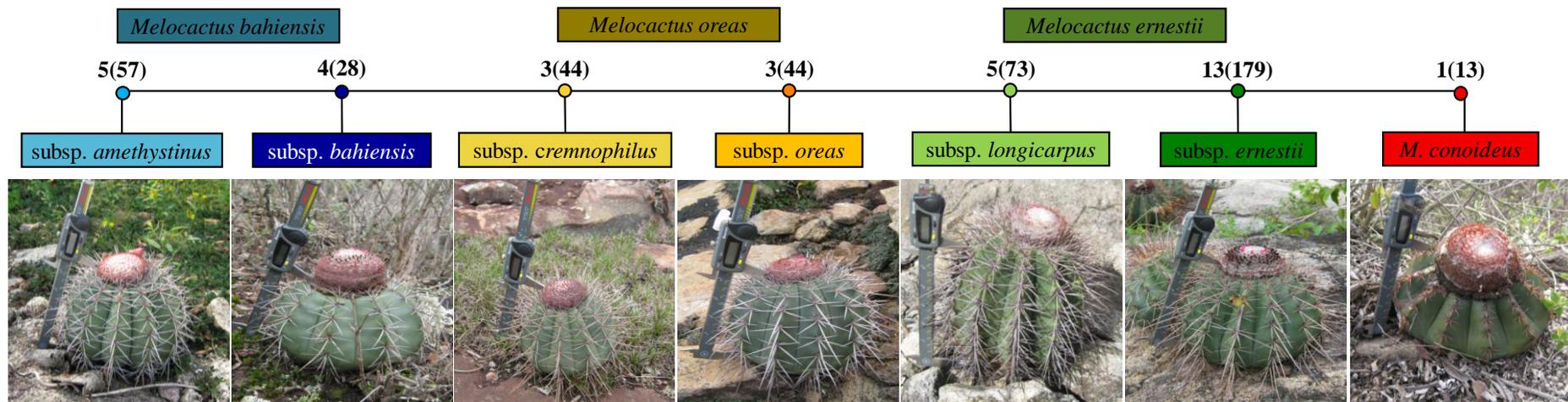


Figura S2. Representantes de cada táxon são mostrados com escala e com os números de populações e indivíduos avaliados entre parênteses. Cores são apresentadas para facilitar interpretação.

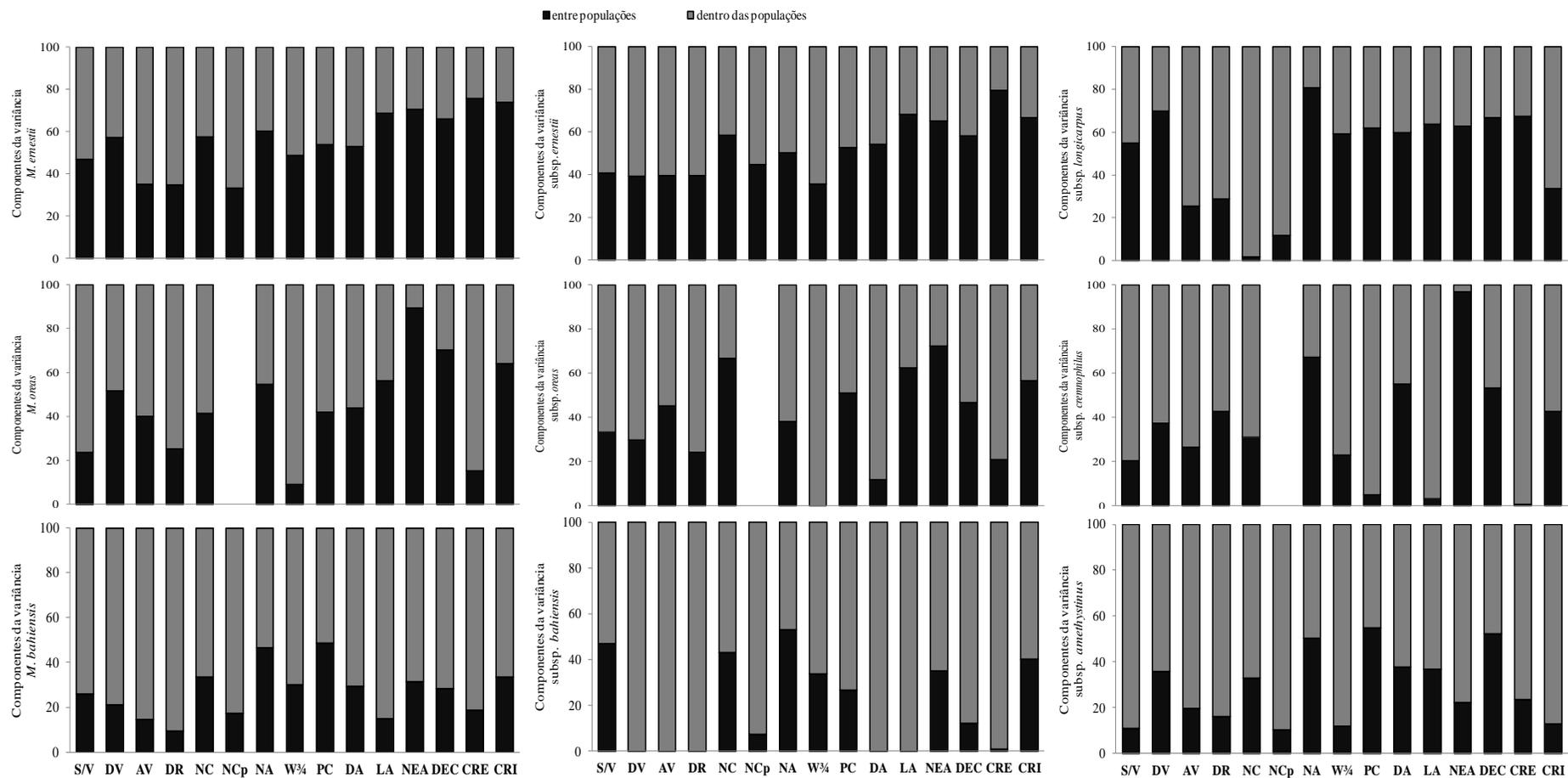


Figura S3. Componentes da variância expressa como porcentagem da variância total entre populações e dentro das populações. Abreviaturas das variáveis como na Tabela S2.

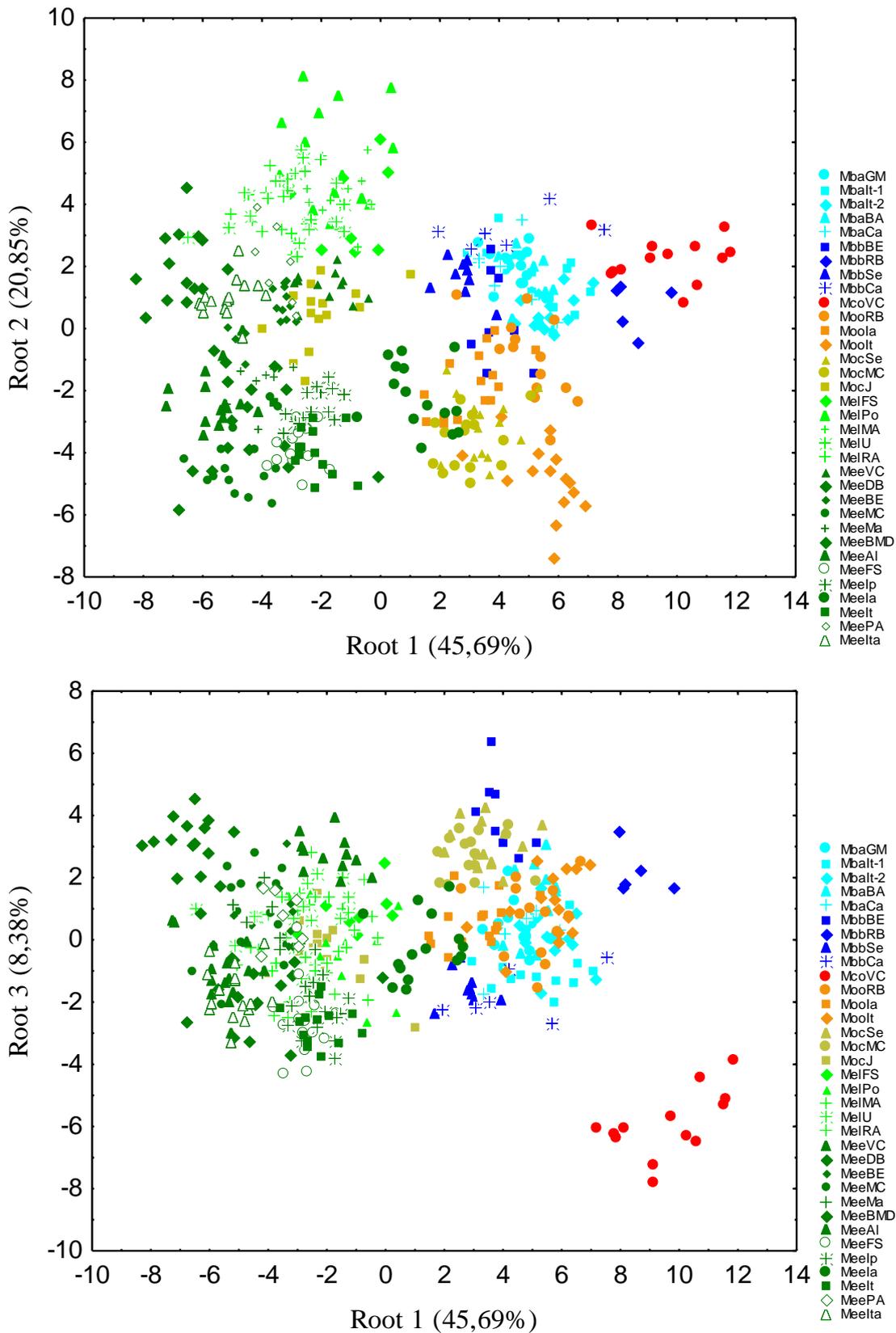


Figura S4. Representação dos valores dos três primeiros eixos canônicos da CVA a partir de 15 caracteres morfológicos em 34 populações do complexo *Melocactus oreas*. (A) CVA 1 e 2; (B) CVA 1 e 3. Ver Tabela 1 para nome das populações e localidades. Para loadings das variáveis mais explicativas a partir dos escores canônicos ver Tabela Suplementar 5.

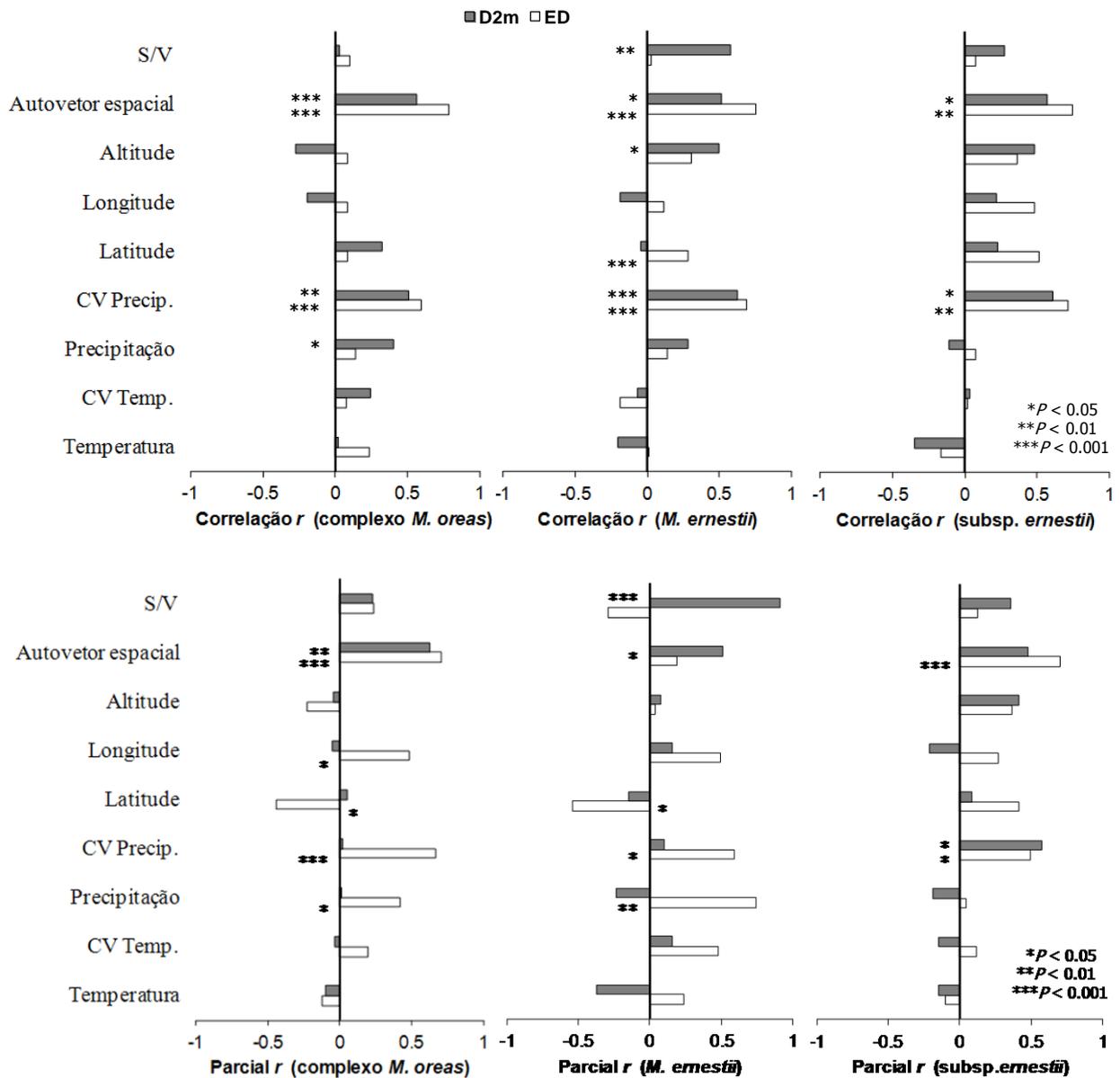


Figura S5. Coeficientes de correlação de Spearman e teste *t* com correção de Dutilleul (1993) e correlação parcial das métricas de variabilidade morfológica a partir da distância de Mahalanobis (D2_m) e distância Euclidiana (ED) das populações do complexo *Melocactus oreas*, *M. ernestii* e *M. e. subsp. ernestii* com as variáveis geográficas (latitude, longitude, altitude e altovetor espacial dominante da matriz de distância geográfica), climáticas (temperatura média anual, coeficiente de variação (CV) da temperatura, precipitação média anual e CV precipitação) e relação superfície volume média em cada população (S/V). Variância total explicada (*r*²) utilizando todas as variáveis: complexo *M. oreas* ED (84%) e D2_m (57%); *M. ernestii* ED (84,9%) e D2_m (87%); subsp. *ernestii* ED (94,8%) e D2_m (84,2%), todas com *P*-valor < 0,01.

Tabela S1 Localização das populações estudadas. BA = Bahia; MG = Minas Gerais; PB = Paraíba; PE = Pernambuco. N = tamanho da amostra para cada população. * Localidade dos holótipos. Sinônimos e determinadores são apresentados.

Espécies	Nomes	Holótipos	Municípios	UF	N	Altitude (m)	Coletor/Voucher	
<i>Melocactus oreas</i>								
subsp. <i>oreas</i>	MooRB		Rui Barbosa	BA	14	426	FM Hughes Foto	
<i>M.o. oreas</i>	MooIa		Iaçu	BA	15	272	FM Hughes 154357	
<i>M.o. oreas</i>	MooIt*	<i>Miquel</i> (1840)	Itatim*	BA	15	352	FM Hughes 154355	
		<i>M. rubrisaetosus</i>						
		<i>Buining et al.</i> (1977)						
<i>M.o.</i> subsp. <i>cremnophilus</i>	MocSe		Seabra	BA	14	1068	FM Hughes 154348	
<i>M.o. cremnophilus</i>	MocMC*	<i>M. cremnophilus</i>	<i>Buining & Brederoo</i> (1972)	Morro do Chapéu*	BA	15	902	FM Hughes 141889
<i>M.o. cremnophilus</i>	MocJ		Jacobina	BA	15	835	FM Hughes 154359	
<i>M.ernestii</i> subsp. <i>longicarpus</i>	MelFS	<i>M. florschuetzianus</i>	<i>Buining & Brederoo</i> (1975)	Francisco Sá	MG	8	989	FM Hughes
<i>M.e. longicarpus</i>	MelPo*	<i>M. longicarpus</i>	<i>Buining & Brederoo</i> (1974)	Porteirinha*	MG	15	661	FM Hughes 141893
<i>M.e. longicarpus</i>	MelMA		Monte Azul	MG	17	840	FM Hughes 154342	
<i>M.e. longicarpus</i>	MelU	<i>M. montanus</i>	<i>Ritter</i> (1979)	Urandi	BA	17	592	FM Hughes 154352
<i>M.e. longicarpus</i>	MelRA	<i>M. mulequensis</i>	<i>Buining & Brederoo</i> (1976)	Rio do Antônio	BA	16	550	FM Hughes 154344
<i>M.e.</i> subsp. <i>ernestii</i>	MeeVC		Vitória da Conquista	BA	12	906	FM Hughes	
<i>M.e. ernestii</i>	MeeDB		Dom Basílio	BA	15	457	FM Hughes 154358	
<i>M.e. ernestii</i>	MeeBE*		<i>Vaupel</i> (1920)	Barra da Estiva*	BA	15	926	FM Hughes 154346
<i>M.e. ernestii</i>	MeeMC	<i>M. erythracanthus</i>	<i>Buining & Brederoo</i> (1973)	Morro do Chapéu	BA	15	925	FM Hughes 154345
		<i>M. oreas</i> f. <i>erythracanthus</i>	<i>Braun</i> (1988)					
<i>M.e. ernestii</i>	MeeMa		Maturéia	PB	9	1073	FM Hughes 154350	

Tabela S1 Continuação ...

Espécies	Nomes	Holótipos	Municípios	UF	N	Altitude (m)	Coletor/ Voucher
<i>M.e. ernestii</i>	MeeBMD		Brejo da Madre de Deus	PE	16	1061	FM Hughes 154351
<i>M.e. ernestii</i>	MeeAl		Alagoinha	PE	15	601	FM Hughes 154339
<i>M.e. ernestii</i>	MeeFS		Feira de Santana	BA	15	192	FM Hughes 154362
<i>M.e. ernestii</i>	MeeIp		Ipirá	BA	15	265	FM Hughes 154338
<i>M.e. ernestii</i>	MeeIa	<i>M. longispinus</i> <i>M. interpositus</i> <i>M. oreas</i> var. <i>longispinus</i>	Buining et al. (1977) Ritter (1979) Braun(1988)	Iaçu	BA	15	272 FM Hughes 154363
<i>M.e. ernestii</i>	MeeIt		Itatim	BA	14	303	FM Hughes 154336
<i>M.e. ernestii</i>	MeePA	<i>M. azulensis</i> <i>M. oreas</i> f. <i>azulensis</i>	Buining et al. (1977) Braun(1988)	Pedra Azul	MG	7	621 FM Hughes 141490
<i>M.e. ernestii</i>	MeeIta	<i>M. nitidus</i>	Ritter (1979)	Itaobim	MG	16	334 FM Hughes 141491
<i>M. conoideus</i>	McoVC*		Buining & Brederoo(1973) Vitória da Conquista	BA	13	1063	FM Hughes
<i>M. bahiensis</i> subsp. <i>amethystinus</i>	MbaGM	<i>M. ammotrophus</i>	Buining et al. (1984)	Grão Mogol	MG	14	665 FM Hughes 154343
<i>M.b. amethystinus</i>	MbaIta-1	<i>M. lensselinkianus</i>	Buining & Brederoo(1974)	Itaobim	MG	13	269 FM Hughes 141492
<i>M.b. amethystinus</i>	MbaIta-2			Itaobim	MG	13	270 FM Hughes Foto
<i>M.b. amethystinus</i>	MbaBA*	<i>M. amethystinus</i>	Buining & Brederoo(1972)	Brejinho das Ametistas*	BA	10	840 FM Hughes
<i>M.b. amethystinus</i>	MbaCa	<i>M. griseoloviridis</i>	Buining & Brederoo(1974)	Carbonita	MG	7	559 FM Hughes
<i>M.b. subsp. bahiensis</i>	MbbBE			Ituaçu	BA	8	833 FM Hughes 154360
<i>M.b. bahiensis</i>	MbbSe			Seabra	BA	5	1029 FM Hughes 141890
<i>M.b. bahiensis</i>	MbbRB			Rui Barbosa	BA	9	427 FM Hughes 154341
<i>M.b. bahiensis</i>	MbbCa			Cetés+Águas Claras	PE	6	924 FM Hughes Foto

Tabela S2 Caracteres taxonômicos mensurados nas populações do complexo *Melocactus oreas*. Siglas das variáveis representadas entre parênteses. Variáveis utilizadas na condução das análises multivariadas em negrito, com nível de correlação < 0,60.

Caracteres vegetativos

- 1. Largura do Cladódio (DV)**
- 2. Altura do Cladódio (AV)**
- 3. Largura do Cefálio (DR)**
4. Altura do Cefálio (AR)
5. Razão Diâmetro:Altura (DV/(AV))
- 6. Número de Costelas (NC)**
- 7. Número de Costelas Pequenas (NCp)**
- 8. Número de Aréolas (NA)**
9. Largura da Costela a $\frac{1}{4}$ ($W^{\frac{1}{4}}$)*
10. Largura da Costela a $\frac{1}{2}$ ($W^{\frac{1}{2}}$)*
- 11. Largura da Costela a $\frac{3}{4}$ ($W^{\frac{3}{4}}$)***
- 12. Altura da Costela (PC)**
13. Distância entre Costelas (DC)
- 14. Distância entre Aréolas (DA)**
15. Altura da Aréola (CA)
- 16. Largura da Aréola (LA)**
- 17. Número de Espinhos por Aréola (NEA)**
18. Número de Espinhos Centrais por Aréola (NEC)
19. Número de Espinhos Radiais (NER)
- 20. Largura do Espinho Central (DEC)**
21. Comprimento do Espinho Central (CEC)
22. Comprimento do Maior Espinho Radial da Direita (CRD)
- 23. Comprimento do Maior Espinho Radial da Esquerda (CRE)**
- 24. Comprimento do Espinho Radial Inferior (CRI)**
- 25. Proporção superfície volume (S/V)**

* Largura das costelas até um, dois e três quartos do comprimento desta

Tabela S3 Caracteres morfológicos utilizados nas análises morfométricas de 34 populações do complexo *Melocactus oreas* no leste do Brasil.

Descritores	<i>M.b. amethystinus</i>	<i>M.b. bahiensis</i>	<i>M. conoideus</i>	<i>M.o. oreas</i>	<i>M.o. cremnophilus</i>	<i>M.e. longicarpus</i>	<i>M.e. ernestii</i>
DV	158,0 ± 19,8 ^{bc} (119,4 - 196,0)	166,5 ± 16,6 ^c (134,9 - 192,2)	169,5 ± 6,8 ^c (154,7 - 180,6)	151,6 ± 16,7 ^b (120,5 - 185,3)	132,9 ± 12,6 ^a (111,9 - 167,5)	141,4 ± 29,7 ^a (95,5 - 210,4)	153,7 ± 18,8 ^{bc} (112,8 - 219,3)
AV	109,2 ± 13,0 ^b (80,3 - 135,6)	109,7 ± 15,4 ^b (77,0 - 142,3)	95,6 ± 12,2 ^a (76,4 - 116,3)	108,5 ± 21,1 ^b (72,0 - 151,9)	93,6 ± 16,0 ^a (62,1 - 132,4)	126,6 ± 30,6 ^c (54,2 - 215,3)	115,6 ± 23,8 ^{bc} (75,3 - 212,0)
DR	69,8 ± 13,1 ^b (25,8 - 94,2)	71,4 ± 12,6 ^b (41,1 - 88,1)	79,9 ± 3,2 ^c (76,7 - 87,2)	64,1 ± 6,5 ^{ab} (48,0 - 76,3)	62,2 ± 10,8 ^a (37,8 - 89,9)	67,3 ± 9,6 ^{ab} (45,1 - 86,4)	69,7 ± 9,2 ^b (33,8 - 88,5)
AR	33,6 ± 15,8 ^a (6,8 - 64,6)	34,9 ± 17,6 ^a (7,8 - 63,6)	52,0 ± 9,8 ^c (29,5 - 67,0)	36,7 ± 12,7 ^{ab} (14,1 - 66,2)	32,4 ± 14,0 ^a (12,9 - 79,8)	40,9 ± 16,6 ^{ab} (11,1 - 80,2)	47,7 ± 24,1 ^{bc} (11,2 - 165,4)
DV/ AV	1,5 ± 0,2 ^b (0,9 - 2,0)	1,5 ± 0,2 ^b (1,2 - 1,9)	1,8 ± 0,2 ^c (1,4 - 2,2)	1,4 ± 0,2 ^b (1,0 - 2,1)	1,5 ± 0,3 ^b (0,9 - 2,2)	1,2 ± 0,3 ^a (0,6 - 2,5)	1,4 ± 0,3 ^b (0,7 - 2,2)
NC	10,0 ± 0,6 ^a (9,0 - 11,0)	9,7 ± 1,0 ^a (8,0 - 12,0)	12,2 ± 1,1 ^{bc} (11,0 - 14,0)	12,6 ± 1,3 ^c (10,0 - 15,0)	12,0 ± 0,8 ^{bc} (10,0 - 14,0)	10,1 ± 0,4 ^a (9,0 - 11,0)	11,6 ± 1,4 ^b (9,0 - 15,0)
NCp	1,7 ± 1,6 ^d (0,0 - 6,0)	0,9 ± 1,6 ^{bc} (0,0 - 5,0)	1,0 ± 1,4 ^c (0,0 - 4,0)	0,0 ± 0,0 ^a (0,0 - 0,0)	0,0 ± 0,0 ^a (0,0 - 0,0)	0,4 ± 1,1 ^{ab} (0,0 - 5,0)	0,4 ± 1,1 ^{ab} (0,0 - 6,0)
NA	8,6 ± 1,0 ^{bc} (6,3 - 11,3)	8,4 ± 0,6 ^{bc} (7,3 - 10,0)	7,6 ± 0,7 ^a (6,0 - 8,5)	8,4 ± 1,0 ^b (6,0 - 11,0)	7,7 ± 1,0 ^a (6,0 - 10,7)	9,3 ± 1,9 ^c (6,7 - 15,0)	9,0 ± 1,5 ^{bc} (6,3 - 14,3)
W¼	25,6 ± 4,9 ^b (15,9 - 35,9)	29,2 ± 5,6 ^c (17,1 - 39,0)	24,4 ± 3,7 ^b (15,5 - 30,3)	19,9 ± 3,1 ^a (13,6 - 26,3)	19,6 ± 3,3 ^a (13,5 - 26,6)	24,4 ± 5,6 ^b (15,5 - 39,9)	23,2 ± 4,2 ^b (10,5 - 33,2)
W½	35,1 ± 6,3 ^b (22,4 - 50,8)	41,9 ± 5,7 ^c (31,4 - 52,2)	33,5 ± 4,3 ^b (23,2 - 39,8)	28,5 ± 4,5 ^a (16,4 - 37,5)	27,8 ± 3,9 ^a (19,8 - 36,0)	32,4 ± 8,6 ^b (17,7 - 57,5)	32,6 ± 5,4 ^b (16,0 - 45,8)
W¾	43,0 ± 7,2 ^c (31,0 - 59,3)	49,6 ± 5,6 ^d (38,4 - 61,0)	41,5 ± 5,2 ^{bc} (32,7 - 48,4)	34,1 ± 4,4 ^a (24,4 - 42,9)	33,5 ± 4,3 ^a (24,1 - 42,0)	36,3 ± 9,6 ^a (19,5 - 64,8)	38,9 ± 6,0 ^b (22,7 - 54,4)
PC	31,6 ± 5,1 ^d (22,6 - 41,1)	31,3 ± 2,7 ^d (26,4 - 37,6)	25,4 ± 2,0 ^c (21,6 - 28,4)	22,3 ± 3,1 ^b (17,3 - 29,2)	20,1 ± 2,0 ^a (15,6 - 24,4)	28,3 ± 5,7 ^c (17,3 - 43,2)	27,5 ± 5,0 ^c (14,1 - 42,8)

Letras ao lado de cada valor indicam médias significativamente diferentes pelo teste de Student-Newman-Keuls post hoc ($p < 0.05$). Valores são média ± desvio padrão (mínimo–máximo); valores em milímetros (exceto NC, NCp, NEA, NEC e NER, que estão em unidades). Ver Tabela 2 para os nomes das variáveis.

Tabela S3 Continuação ...

Descritores	M.b. amethystinus	M.b. bahiensis	M. conoideus	M.o. oreas	M.o. cremnophilus	M.e. longicarpus	M.e. ernestii
DC	49,4 ± 7,9 ^d (31,8 - 69,4)	55,5 ± 6,1 ^e (45,0 - 69,3)	46,0 ± 3,8 ^{cd} (37,9 - 50,2)	39,3 ± 5,5 ^b (27,6 - 50,7)	35,7 ± 3,9 ^a (28,3 - 44,1)	44,9 ± 9,5 ^c (23,7 - 74,4)	45,2 ± 7,2 ^c (24,3 - 62,2)
DA	22,3 ± 3,3 ^b (15,6 - 28,8)	24,2 ± 3,7 ^b (17,6 - 30,4)	18,6 ± 1,1 ^a (16,9 - 20,4)	22,9 ± 3,4 ^b (16,7 - 30,1)	19,9 ± 3,1 ^a (15,1 - 26,4)	22,9 ± 5,0 ^b (14,3 - 37,9)	22,6 ± 4,2 ^b (13,7 - 37,9)
CA	8,4 ± 1,1 ^b (6,5 - 11,1)	8,7 ± 1,5 ^b (6,0 - 11,1)	7,9 ± 0,4 ^b (7,3 - 9,0)	8,1 ± 1,1 ^b (5,8 - 10,2)	6,7 ± 0,8 ^a (5,5 - 8,5)	9,8 ± 1,7 ^c (6,2 - 13,1)	8,6 ± 1,6 ^b (5,3 - 14,7)
LA	6,2 ± 0,6 ^{bc} (5,0 - 7,5)	6,5 ± 1,0 ^c (4,8 - 8,6)	6,0 ± 0,4 ^{bc} (5,1 - 6,6)	5,8 ± 0,8 ^b (4,1 - 7,4)	5,2 ± 0,5 ^a (4,3 - 6,1)	7,2 ± 1,1 ^d (5,1 - 9,5)	6,4 ± 1,2 ^c (3,6 - 12,2)
NEA	11,9 ± 0,9 ^{bc} (11,0 - 13,7)	12,5 ± 2,3 ^c (9,0 - 15,8)	11,9 ± 1,2 ^{bc} (10,0 - 14,0)	10,5 ± 1,4 ^a (7,7 - 12,5)	11,6 ± 2,9 ^b (9,0 - 16,0)	17,4 ± 1,4 ^e (14,5 - 20,3)	15,2 ± 1,6 ^d (11,0 - 19,3)
NEC	2,6 ± 0,8 ^c (1,0 - 3,8)	2,6 ± 1,4 ^{bc} (1,0 - 4,0)	2,0 ± 1,4 ^a (1,0 - 3,0)	2,3 ± 1,1 ^{abc} (1,0 - 4,0)	2,2 ± 1,4 ^{ab} (1,0 - 4,0)	5,3 ± 1,2 ^e (3,8 - 8,0)	4,3 ± 1,1 ^d (2,0 - 8,0)
NER	9,2 ± 0,8 ^b (7,7 - 10,7)	9,9 ± 1,0 ^c (8,0 - 11,8)	10,0 ± 0,6 ^c (9,0 - 11,0)	8,3 ± 0,8 ^a (6,7 - 10,0)	9,5 ± 1,6 ^b (7,3 - 12,0)	12,1 ± 0,5 ^e (10,5 - 13,3)	10,9 ± 1,0 ^d (8,0 - 13,0)
DEC	1,4 ± 0,2 ^{cd} (1,1 - 1,8)	1,5 ± 0,2 ^d (1,1 - 1,8)	1,3 ± 0,1 ^b (1,1 - 1,5)	1,5 ± 0,2 ^{cd} (1,1 - 1,9)	1,1 ± 0,1 ^a (0,8 - 1,4)	1,2 ± 0,2 ^a (0,9 - 1,6)	1,3 ± 0,2 ^{bc} (0,9 - 1,9)
CEC	29,4 ± 4,1 ^c (20,3 - 38,4)	31,0 ± 4,8 ^c (21,5 - 40,4)	12,8 ± 1,7 ^a (9,7 - 14,6)	26,4 ± 4,4 ^b (16,8 - 36,4)	32,0 ± 3,5 ^c (23,2 - 39,7)	35,4 ± 5,5 ^d (23,8 - 46,6)	45,1 ± 8,4 ^e (28,5 - 68,4)
CRD	25,0 ± 2,6 ^{bc} (19,0 - 29,9)	26,0 ± 2,3 ^c (20,0 - 29,7)	15,1 ± 1,4 ^a (13,1 - 16,7)	25,2 ± 3,3 ^{bc} (17,2 - 32,9)	23,4 ± 2,3 ^b (17,6 - 27,8)	27,5 ± 4,6 ^c (18,9 - 36,2)	26,8 ± 6,0 ^c (18,8 - 45,1)
CRE	24,7 ± 2,3 ^b (19,8 - 28,9)	26,9 ± 2,5 ^{cd} (21,3 - 31,0)	15,4 ± 1,4 ^a (13,4 - 17,6)	24,8 ± 3,5 ^{bc} (14,5 - 33,1)	24,0 ± 2,8 ^b (17,9 - 31,2)	28,5 ± 4,9 ^d (18,0 - 40,8)	27,6 ± 6,0 ^{cd} (18,4 - 47,5)
CRI	38,0 ± 3,2 ^b (28,1 - 45,4)	41,1 ± 7,1 ^c (28,6 - 53,1)	21,1 ± 2,5 ^a (17,1 - 24,9)	47,2 ± 5,3 ^d (36,9 - 58,7)	55,4 ± 6,3 ^e (39,0 - 69,4)	54,8 ± 7,1 ^e (33,3 - 74,2)	75,1 ± 12,3 ^f (51,9 - 114,5)
S/V	0,096 ± 0,015 ^b (0,067 - 0,134)	0,085 ± 0,010 ^a (0,064 - 0,103)	0,104 ± 0,012 ^{bc} (0,092 - 0,135)	0,123 ± 0,017 ^{ef} (0,089 - 0,170)	0,130 ± 0,015 ^f (0,103 - 0,167)	0,116 ± 0,031 ^{de} (0,067 - 0,210)	0,109 ± 0,020 ^{cd} (0,072 - 0,183)

Tabela S4 Matriz de classificação das OTUs nas análises de discriminantes e variabilidade morfológica baseada em 15 caracteres vegetativos em 34 populações do complexo *Melocactus oreas*. Prob., Probabilidade de correta classificação das OTUs. ED, média da distância Euclidiana; D2m, mediana da distância generalizada de Mahalanobis dos indivíduos para o centróide da população. *A_{MRPP} de todas as populações.

	%	GM	It-1	It-2	BA	Ca	BE	RB	Se	Ca	VC	RB	Ia	It	Se	MC	J	FS	Po	MA	U	RA	VC	DB	BE	MC	Ma	BMD	Al	FS	Ip	Ia	It	PA	Ita	D2m	ED		
MbaGM	64	9	2			3																														12.5	46.6		
Mbalt-1	85		11	2																																	15.2	47.5	
Mbalt-2	100			13																																	10.9	34.5	
MbaBA	70				7	2	1																														17.7	51.2	
MbaCa	86			1		6																															13.2	35.3	
MbbBE	100						8																														10.3	36.1	
MbbRB	100							5																													10.1	30.6	
MbbSe	100								9																												3.3	27.5	
MbbCa	83								1	5																											12.3	38.2	
McoVC	100										13																										11.7	26.9	
MooRB	93											13	1																								12.6	33.5	
MooIa	87											1	13																			1					10.4	37.7	
MooIt	93												14	1																							11.9	44.1	
MocSe	100													14	1																						10.1	34.1	
MocMC	93													1	14																						9.4	31.5	
MocJ	100															15																					8.1	38.1	
MelFS	100																8																				10.1	40.1	
MelPo	100																	15																			17.8	53.5	
MelMA	94																	1	16																		13.0	42.9	
MelU	88																		15	1			1														13.3	65.6	
MelRA	94																	1		15			15														8.6	54.3	
MeeVC	100																							12													5.8	30.0	
MeeDB	100																							1	15												13.3	42.6	
MeeBE	93																							1		14											8.7	34.5	
MeeMC	100																									15											14.3	45.1	
MeeMa	100																										9										9.5	77.2	
MeeBMD	88																											14	1	1							18.1	59.6	
MeeAl	67																										4	1	10								12.9	45.8	
MeeFS	100																													15							6.7	38.2	
MeeIp	93																												1	14							6.1	30.3	
Meela	87												2																								10.9	47.2	
MeeIt	93																												1								6.2	35.0	
MeePA	86																																				11.8	47.9	
MeeIta	100																																				16	10.9	44.7
Total	92.2	9	13	16	7	11	9	5	10	5	13	14	15	15	15	15	15	9	16	16	16	16	14	15	14	15	13	15	11	18	14	14	13	6	16	0.349*			
Prob.	0.9	0.7	0.8	1.0	0.6	0.8	0.9	1.0	1.0	0.8	1.0	0.8	0.8	0.9	0.9	0.9	1.0	1.0	1.0	0.9	0.9	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	0.8	0.7	0.9	0.9	0.9	0.9	0.8	1.0				

Ver Tabela S1 para os nomes das populações.

Tabela S5 Correlação entre as variáveis originais e os cinco primeiros eixos das variáveis canônicas (CVA) para as 34 populações do complexo *Melocactus oreas*.

	# ID	Root_1	Root_2	Root_3	Root_4	Root_5
DV	1	0,044	-0,278	-0,249	0,285	0,256
AV	2	-0,075	0,214	0,259	-0,170	0,107
DR	3	-0,051	0,014	-0,174	0,256	-0,084
NC	6	0,099	-0,629	-0,445	0,252	-0,093
NCp	7	0,048	-0,075	-0,155	-0,161	-0,020
NA	8	0,007	-0,335	-0,129	0,756	-0,517
W¾	11	0,146	-0,434	0,040	-0,177	-0,110
PC	12	-0,182	0,114	-0,156	-0,263	0,385
DA	14	0,073	0,293	0,335	-0,022	0,106
LA	16	-0,010	0,261	0,251	0,176	0,179
NEA	17	-0,665	0,403	-0,601	0,108	0,019
DEC	20	0,316	-0,328	-0,092	0,591	0,506
CRE	23	0,110	0,383	0,490	0,322	-0,488
CRI	24	-0,774	-0,649	0,280	-0,195	0,133
S/V	25	-0,013	0,026	0,199	0,209	-0,011
Autovalor		17,948	8,753	3,460	3,224	2,162
% Variância		45,69	20,85	8,38	7,81	5,24

Ver Tabela S2 para os nomes das variáveis.

5

A influência de componentes do nicho climático e topográficos na filogeografia: implicações taxonômicas para o complexo *Melocactus oreas* (Cactaceae)

**A influência de componentes do nicho climático e topográficos na filogeografia:
implicações taxonômicas para o complexo *Melocactus oreas* (Cactaceae)**

Frederic Mendes Hughes · Claudia Maria Jacobi

*Departamento de Biologia, Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais 31270-901,
Brasil*

e-mail: fredericmhughes@gmail.com

Eduardo Leite Borba

*Centro de Ciências Naturais e Humanas, Universidade Federal do ABC, Santo André, São
Paulo 09210-170, Brasil*

Resumo

Assinaturas filogeográficas emergem da complexidade topográfica e flutuações paleoclimáticas regionais. Nesse estudo, três espaçadores intergênicos cloroplastidiais (*trnS-trnG*, *trnT-psbD* e *atpL-atpH*) foram sequenciados em 513 indivíduos de 37 populações, abrangendo toda a amplitude geográfico-ecológica conhecida das quatro espécies do complexo *Melocactus oreas*, todas endêmicas do leste do Brasil. Análises de diversidade genética e estruturação espacial foram realizadas. Modelagem de nicho foi utilizada para reconstruir a paleodistribuição e validar padrões filogeográficos. Identificamos 19 haplótipos com padrão consistente entre as espécies do complexo *M. oreas*. A distância genética (F_{ST}) foi associada positivamente com a complexidade topográfica e distância altitudinal. Linhagens microendêmicas e estruturadas geograficamente foram reconhecidas. Padrão de expansão sul-norte foi observado, com prováveis refúgios nas serras e chapadas. Oscilações notáveis na paleodistribuição do nicho climático do complexo *M. oreas* durante o pleistoceno foram observadas, principalmente sobre efeito da precipitação anual e da temperatura média do trimestre mais frio e mais quente. Com base nas nossas análises, sugerimos que a complexidade topográfica da paisagem e as oscilações climáticas no leste do Brasil desempenharam um importante efeito na história demográfica e estruturação espacial de haplótipos do complexo *M. oreas*. Em geral, a delimitação morfológica atual das espécies do complexo *M. oreas* foi congruente com as diferenças genéticas, mas não existe relação clara entre os táxons infraespecíficos. Implicações taxonômicas são apresentadas.

Palavras-chave: Cactaceae, complexidade topográfica, expansão populacional, glaciações pleistocênicas, história demográfica, modelagem de nicho, refúgio

Introdução

As espécies ocupam faixas ambientais adequadas às suas exigências mínimas e podem se deslocar acompanhando as variações espaço-temporais no clima (Avice 2000; Pulliam 2000; Davis & Shaw 2001). Frequentemente, esses deslocamentos são acompanhados por marcas genéticas que podem estar associadas, além do clima, com a complexidade topográfica e capacidade dispersiva (Turchetto-Zolet et al. 2013). Nesse contexto, estudos das relações filogeográficas têm representado uma fonte importante de informação sobre marcas genéticas históricas (Hickerson et al. 2010), possibilitando a identificação de zonas de contato secundário, refúgios pleistocênicos e rotas de dispersão (Kidd & Ritchie 2006; Stewart et al. 2010).

Flutuações climáticas no Pleistoceno influenciaram na expansão e retração de espécies tanto no hemisfério norte (Hewitt 2004) quanto no hemisfério sul (revisado em Sársic et al. 2011, Turchetto-Zolet et al. 2013) e foram associadas, principalmente, com variações na temperatura e na quantidade de chuva. A compreensão do padrão de expansão e retração da distribuição de espécies na América do Sul é reforçado com o aumento expressivo de estudos filogeográficos e de paleodistribuição (revisados em Turchetto-Zolet et al. 2013). Neste caso, a integração de dados moleculares e modelos de paleodistribuição, pela sua natureza complementar, tem proporcionado um aumento no realismo dos modelos históricos, melhorando as interpretações filogeográficas sobre a importância dos eventos climáticos e topográficos para a configuração da estrutura genética populacional e padrões biogeográficos (Carstens & Richards 2007; Werneck et al. 2012; Cosacov et al. 2013). Entretanto, estudos filogeográficos realizados com plantas no bioma Caatinga no leste brasileiro são raros (p.e., Caetano et al. 2008; Pinheiro et al. 2014), o que dificulta uma abordagem comparativa da história demográfica de diferentes espécies no bioma.

O bioma Caatinga, restrito ao semi-árido no leste do Brasil, é constituído pelo maior e mais isolado núcleo de floresta tropical seca da América do Sul (Werneck et al. 2012). A sua flora (Pennington et al. 2009) pode ser reflexo da elevada complexidade topográfica (Velloso et al. 2002; Queiroz 2006) e de eventos de expansão e retração dos núcleos áridos durante o Mioceno e Pleistoceno (Arakaki et al. 2011). Em ambientes áridos e semi-áridos, os controles climáticos e biogeoquímicos representam um dos principais fatores reguladores da funcionalidade e dinâmica desses ecossistemas, uma vez que a disponibilidade hídrica é o principal direcionador da atividade biológica (Maestre et al. 2012; Delgado-Baquerizo et al. 2013). Nesse contexto, as mudanças nos regimes de precipitação durante as oscilações climáticas do passado podem ter influenciado de maneira notável a distribuição das espécies de plantas no leste do Brasil (revisados em Werneck et al. 2011). Por exemplo, as florestas tropicais secas e savanas podem ter se expandido durante o Último Máximo Glacial (LGM, 21.000 anos antes do presente AP), com posterior fragmentação da distribuição das espécies tolerantes a seca no Último Interglacial (LIG, ~120.000 - 140.000 AP), caracterizados por climas mais quentes e úmidos (Clapperton 1993; Behling 2003).

O efeito das flutuações paleoclimáticas no bioma Caatinga também pode ser notado nos afloramentos rochosos isolados formados pela pediplanação, onde climas áridos e semi-áridos alternados por climas úmidos proporcionaram a evolução da paisagem (Clapperton 1993). Alguns autores têm considerado a hipótese destes afloramentos terem atuado como refúgio para comunidade de plantas adaptadas a seca durante os interglaciais (Bennet & Provan 2008; Speziale & Ezcurra 2012), o que pode ser notado pela baixa similaridade florística e microendemismos (Conceição et al. 2007; Gomes & Alvez 2009) e o padrão de diversidade genética e haplotípica distintos entre o habitat circundante e outros afloramentos (Pinheiro et al. 2014). Os padrões de endemismos em afloramentos rochosos também têm sido explicados pela sua natureza insular e eventos estocásticos de colonização (Porembsky et al.

1998), com a deriva genética atuando como um importante fator na estruturação genética e especiação (Barbará et al. 2007; Bonatelli et al. 2014). Adicionalmente, esses habitats podem estar associados com condições climáticas contrastantes, o que também favoreceria a atuação de mecanismos seletivos em função da divergência ecológica (Schluter 2009) e não puramente pelo isolamento por distância (Wright 1943).

O leste do Brasil é o terceiro maior centro de diversidade de Cactaceae no Neotrópico e centro de diversidade do gênero *Melocactus* Link & Otto. As cactáceas apresentam um grupo taxonômico com limitada divergência em sequências plastidiais devido a sua origem recente (Ritz et al. 2007; Arakaki et al. 2011), mas com notável radiação adaptativa (Taylor & Zappi 2004; Helsen et al. 2009a). Particularmente, os táxons do complexo *Melocactus oreas* (Cactaceae) possuem um padrão morfológico hipervariável (Taylor & Zappi 2004), o que pode ser reflexo da natureza insular e da diferença ambiental entre os habitats que ocupam (Capítulo 4), e das flutuações climáticas do passado (Clapperton 1993; Pinheiro et al. 2014). As populações do complexo *M. oreas* localizadas na região central da distribuição estão inseridas em um sistema definido por Ab'Saber (2003) como semi-árido acentuado ou sub-desértico, enquanto que as populações localizadas mais ao sul encontram-se nos domínios do semi-árido moderado, com faixas sub-úmidas. Além disso, chapadas e serras na porção norte, sul e central proporcionam regiões menos áridas, com pluviosidade acima de 1.000 mm.ano⁻¹ e menos de seis meses secos, contrastando com os valores observados na região central (abaixo de 600 mm.ano⁻¹). Neste caso, diferentes regimes de seleção entre populações poderiam reforçar o sucesso de fenótipos adaptados às condições locais. As espécies do gênero *Melocactus* são predominantemente alógamas, polinizadas por beija-flores, e suas sementes são dispersas por lagartos, ambos territorialistas (Figueira et al. 1994; Gomes et al. 2013), o que limita o fluxo de pólen e de sementes entre populações, o que pode ser ao menos em parte responsável pelo padrão morfológico hipervariável (Capítulo 4). Por fim, linhagens

ancestrais podem ter experimentado expansão populacional e contato secundário repetidas vezes durante os períodos glaciais, como sugerido para outras espécies de cactos (p.e., Helsen et al. 2009a; Bonatelli et al. 2014), contribuindo para o padrão complexo de variação morfológica. Todas essas questões têm causado confusões taxonômicas e criação de complexos de espécies ou de muitas espécies microendêmicas de cactos no leste do Brasil (Taylor & Zappi 2004; Machado et al. 2005).

Os objetivos deste estudo foram: 1) investigar a história evolutiva dos representantes do complexo *M. oreas* a partir de marcadores cloroplastidiais; 2) avaliar possível divergência de nicho climático entre espécies através das paleodistribuições; 3) entender a origem da distribuição geográfica disjunta dos elementos constituintes do complexo *M. oreas* e correlacionar a complexidade topográfica com a estruturação de haplótipos; 4) verificar se o complexo *Melocactus oreas* corresponde a um complexo de várias espécies microendêmicas com distribuição restrita, ou se corresponde a uma única espécie com grande variação morfológica e ampla distribuição. Neste contexto, empregaremos abordagens taxonômicas integrativas, em que os padrões morfológicos (Capítulo 4) e de divergência ecológica (Capítulo 3), associados com os padrões de variabilidade haplotípica das espécies e subespécies do complexo *M. oreas*, podem auxiliar na delimitação destes táxons de maneira mais confiável (de Queiroz 2007; Padial et al. 2010).

A divergência ecológica em alopatria tem sido sugerida como o modelo especiativo prevalente no complexo *M. oreas*, e pode ter atuado como fator direcionador do padrão divergente dos caracteres fenotípicos (Taylor & Zappi 2004; Capítulo 3; Capítulo 4). Dessa forma, flutuações paleoclimáticas associadas com a elevada complexidade topográfica da paisagem e padrão insular das populações do complexo *M. oreas* devem ter desempenhado papéis importantes na sua história demográfica. Se as populações centrais de terras baixas da distribuição não foram extintas durante os períodos interglaciais (LIG) no Pleistoceno

(hipótese da persistência *in situ*), então a diversidade genética e o número de haplótipos únicos dentro das populações deve ser elevado e comparável às populações localizadas no norte e sul da Caatinga e nas áreas de chapadas e serras. Além disso, a paleodistribuição deve mostrar áreas comparáveis de adequabilidade ambiental entre a região central com as regiões norte e sul. Por outro lado, se as populações foram afetadas pela expansão das florestas tropicais no LIG (hipótese da diminuição da vantagem competitiva), com a diminuição da vantagem competitiva sob essas condições, as populações que habitam a região central em terras baixas devem apresentar um padrão muito diferente dos setores norte e sul, e das áreas de chapadas e serras. Em primeiro lugar, a diversidade deve ser mais baixa que o observado nas outras áreas. Em segundo lugar, um sinal de expansão da população para leste que acompanha o aumento da aridez durante os glaciais máximos (LGM) deve ser evidente. Em terceiro lugar, a paleodistribuição deve mostrar baixas probabilidades de ocorrência no LIG principalmente nas regiões de terras baixas da porção central da distribuição e maior probabilidade em altitudes mais elevadas.

Materiais e Métodos

Espécies e amostragem populacional

Os táxons que constituem o complexo *Melocactus oreas* (= *M. oreas* subsp. *oreas* e subsp. *cremophilus*, *M. ernestii* subsp. *ernestii* e subsp. *longicarpus*, *M. bahiensis* subsp. *bahiensis* e subsp. *amethystinus*, e *M. conoideus*) são endêmicos do leste do Brasil, e se distribuem em afloramentos rochosos em uma gama de variações altitudinais e litológicas (Tabela 1, Fig. 1), com exceção de *M. conoideus*, conhecida para uma única localidade onde se estabelece em substrato de cascalho de quartzo (Taylor & Zappi 2004). Foram amostradas populações ocorrentes em todas as localidades nas quais foram coletados os holótipos de todos os táxons envolvidos, com exceção de *M. b.* subsp. *bahiensis* (Tabela 1) devido à

extinções locais por coleta ou mineração (obs. pess.). A nomenclatura dos táxons abordados segue Taylor & Zappi (2004). Todos os vouchers foram depositados no herbário da Universidade Federal de Minas Gerais (BHCB).

Tecidos de 513 indivíduos adultos dos sete táxons constituintes do complexo *M. oreas* a partir de 37 populações (Tabela 1), foram coletados e armazenados em sílica gel. Foram coletados tentativamente cerca de 15 indivíduos por população, mas em função da disponibilidade de indivíduos adultos, este número variou de cinco a 17 (média = 14 ± 3 indiv./pop.). Espécimes foram coletados abrangendo toda a amplitude geográfico-ecológica conhecida das subespécies (Taylor & Zappi 2004). Características dos habitats de todas as populações e acrônimos estão apresentados na Tabela 1. A distância entre populações variou de 100 m (MooIa – MeeIa) a 1.390 km (MbaCa – MeeMa). As amostras de um indivíduo por espécie de *M. salvadorensis* e *M. zehntneri* foram incluídas como grupos externos nas análises.

Dados genéticos

O DNA total dos indivíduos foi extraído de 100 mg de tecido seco utilizando o protocolo de De la Cruz et al. (1997), adaptado para mini-preparações (Cota-Sánchez et al. 2006) e combinado com a etapa inicial de lavagem com Sorbitol do protocolo de Russel et al. (2010). Ver Apêndice 1 para detalhamento do protocolo de extração e seleção de primers plastidiais. Três marcadores da região longa de cópia única (LSC) do cpDNA mais informativos para o complexo *M. oreas*, *trnS-trnG*, *trnT-psbD* e *atpL-atpH* (Shaw et al. 2007) foram amplificados através de reação em cadeia da polimerase (PCR), com temperatura de anelamento (T_A) de 51°C. Produtos da PCR foram purificados com o protocolo EDTA (Biosystems) e sequenciados nas orientações senso e antisenso com os primers originais da PCR utilizando ABI BigDye Terminators 3730XL (Applied Biosystems, Inc). A matriz de

dados foi 96% completa, faltando 64 sequências do total possível de 1.539. Após estimativa da precisão de cada base nucleotídica pelo algoritmo PHRED (Togawa & Brigido 2003) sequências consenso foram obtidas com o algoritmo CAP3 (Huang & Madan 1999). Todas as sequências dos haplótipos foram depositadas no GenBank (aguardando números de acesso). Cada conjunto de sequências foi alinhado utilizando MUSCLE (v. 3.6, Edgar 2004) e editadas manualmente no MEGA 5.2. Regiões de má qualidade nas extremidades foram excluídas. Como não detectamos incongruência filogenética significativa entre as três regiões ($P = 0,270$), a partir do teste de homogeneidade da partição (PHT) realizada no PAUP v4b10 (Swofford 2002), essas foram concatenadas como uma única sequência e empregadas nas análises posteriores.

Relações haplotípicas, história demográfica e estrutura genética populacional

As relações haplotípicas foram inferidas através do algoritmo median-joining (Bandelt et al. 1999) implementado no software Network 4.2.0.1 (Forster et al. 2004), usando um limite de probabilidade de conexão de 95%. Divisões entre linhagens suportadas pela análise de redes de haplótipos foram consideradas para a identificação de barreiras geográficas.

O número de haplótipos (h), a diversidade haplotípica (Hd) e nucleotídica (π) (Nei 1987) foram estimadas para cada população e para o complexo *M. oreas* utilizando o software Arlequin 3.5.1.3 (Excoffier & Lischer 2010). Para testar a hipótese nula de homogeneidade das frequências alélicas entre populações, empregamos o índice de fixação Φ (Weir & Cockerham 1984). Análise hierárquica de variância molecular (AMOVA) foi implementada no software Arlequin. AMOVAs foram realizadas com: (1) populações divididas de acordo com os táxons subespecíficos descritos por Taylor & Zappi (2004) e (2) populações divididas de acordo com os haplogrupos (Figura 1). Adicionalmente, análise de autocorrelação espacial entre haplótipos foi empregada para detectar estruturas genéticas usando o software SAM v4.0

(Rangel et al. 2010) com 10.000 permutações em classes de distância de 50Km. Adicionalmente, a associação da diversidade haplotípica com a variação da temperatura (bio_4) e precipitação (bio_15), e possíveis tendências latitudinais e longitudinais foram testadas no software SAM.

A hipótese de que o padrão atual de diversidade haplotípica e distribuição reflete a contração de uma antiga população amplamente distribuída foi testada usando o índice de neutralidade de Tajima D e os testes F_u e F_s implementados no Arlequin. Os valores negativos destas estatísticas indicam um excesso de alelos raros ou novas mutações na genealogia resultante de qualquer expansão populacional. Distribuição *mismatch*, baseada na distribuição das diferenças pareadas entre sítios nucleotídicos foi conduzida no Arlequin com 10.000 *bootstraps* para intervalos de confiança aproximados. O teste de bondade do ajuste com base na soma dos desvios quadrados (SSD) e índice de irregularidade (*raggedness index*, R_h) foram usados para testar o ajuste da distribuição. Um crescimento populacional súbito produz distribuições unimodais, enquanto que uma população com tamanho estável ou em declínio produz distribuições multimodais (Schneider & Excoffier 1999; Excoffier 2004). A matriz de diferenciação genética entre populações F_{ST} (linearized pairwise; Weir & Cockerham 1984) foi estimada com 10.000 permutações no software Arlequin.

Para estimar a complexidade topográfica ao longo de vetores entre pares de populações (Guarnizo & Cannatella 2013), utilizamos o pacote 3D Analyst do ArcMap v.10 (ESRI, Redland, CA) e um modelo de elevação da STRM com resolução de 250 m (<http://srtm.csi.cgiar.org/>). As matrizes de distância geográfica, distância perpendicular Euclidiana e a distância do contorno entre populações foram empregadas na construção da matriz de complexidade topográfica (ver Guarnizo & Cannatella 2013 para detalhamento). Razões maiores entre elementos das matrizes indicam maior complexidade topográfica na paisagem entre populações. Adicionalmente, uma matriz de distância euclidiana ambiental

entre populações foi construída a partir dos valores de elevação (STRM) e nove variáveis bioclimáticas (base de dados Worldclim, Hijmans et al. 2005): temperatura média anual (bio_1), temperatura média do trimestre mais quente (bio_10), temperatura média do trimestre mais frio (bio_11), precipitação anual (bio_12), precipitação do período mais seco (bio_14), precipitação do trimestre mais frio (bio_19), temperatura média da variação diurna (bio_2), isothermalidade (bio_3) e sazonalidade da temperatura (bio_4) e da precipitação (bio_15).

Para determinar a associação entre a diferenciação genética (F_{ST}) com algum fator espacial (i.e., complexidade topográfica, distância euclidiana e distância ambiental), usamos a modelagem causal (Legendre & Trousselier 1988; Cushman & Landguth 2010). Modelos que descrevem o efeito de várias combinações de variáveis espaciais na diferenciação genética entre populações foram caracterizados por uma combinação única de correlações parciais. Os modelos foram testados com correlações parciais de Mantel no programa ZT v.1.1 com 10.000 permutações (Bonnet & Van de Peer 2002). Estes efeitos foram avaliados no complexo *M. oreas* e nos haplogrupos (Figura 1).

Modelagem de nicho e paleodistribuição

Para complementar as análises filogeográficas e identificar as áreas climaticamente estáveis onde o complexo *M. oreas* poderia ter permanecido durante o Pleistoceno, o nicho ecológico atual (ver Capítulo 3 para detalhamento do método) foi projetado para o Último Glacial Máximo (LGM; ~21.000 AP) a partir de dois modelos de circulação climática global: Community Climate System Model (CCSM) e o modelo Interdisciplinary Research on Climate (MIROC), e para o Último Interglacial (~120.000 - 140.000 AP; Otto-Bliesner et al. 2006). Todas as camadas climáticas foram redimensionadas para 2,5 arc-minutos (~5 km²) de resolução espacial (Hijmans et al. 2005; Braconnot et al. 2007). Teste de *jackknife* foi realizado para avaliar a importância de cada variável. Todas as análises foram conduzidas

com Maxent 3.3.2 (Phillips & Dudík 2008). Um SDM consenso foi gerado para LGM, a partir dos modelos CCSM e MIROC, empregando uma abordagem conservativa onde assumimos somente a interseção entre os modelos (Waltari et al. 2007). Finalmente, identificamos as áreas potenciais estáveis entre os períodos de tempo, onde a presença dos táxons foi prevista com a maior probabilidade para os cenários passados e atual. Todos os mapas foram confeccionados com o software ArcMap v. 10. Essas análises não foram conduzidas nos haplogrupos devido ao número reduzido de registros de ocorrência em cada partição, sob pena de projeções inconsistentes (Peterson et al. 2011).

Resultados

Relações haplotípicas, história demográfica e estrutura genética populacional

O sequenciamento dos três espaçadores intergênicos cloroplastidiais, *trnT-psbD*, *atpL-atpH* e *trnS-trnG*, gerou fragmentos de 672, 429 e 765 pb, respectivamente. A concatenação das três regiões geraram fragmentos de 1866 pb, com 30 sítios polimórficos e 19 haplótipos (H1, H2, ... H19) para os 507 indivíduos sequenciados em 37 populações (Tabela S1). Destes sítios polimórficos, dois não foram utilizados em nossas análises por representarem locais em regiões repetitivas (poli T) na região *atpL-atpH*, cujas relações não puderam ser determinadas e por serem possíveis fontes de homoplasias. Um indel de 6 pares de base estava contido na região *trnT-psbD* e foi representativo de todos os indivíduos amostrados na população MelCe, e foi codificado como presença e ausência. Das 37 populações 23 não apresentaram polimorfismo (Tabela 1).

Entre todos os indivíduos sequenciados encontramos uma diversidade haplotípica (*Hd*) de 0,882 e diversidade nucleotídica (π) de 0,180 (SD = 0,097). O baixo nível de polimorfismo observado dentro das populações provavelmente não foi devido exclusivamente ao tamanho amostral, uma vez que populações com maiores amostras (p.e., MbaGM, MeeDB, MelU) não

apresentaram polimorfismo (Tabela 1). Os testes de neutralidade de Tajima ($D = 0,8665$) e Fu's FS ($= -0,538$) não foram significativos.

A rede de haplótipos do complexo *M. oreas* exibiu uma topologia com estruturação geográfica aparente (Fig. 1). Com base nas análises filogeográficas, identificamos cinco filogrupos (Fig. 1). G1 é formado por H1 a H5, H12, H13 e H17. O H1, mais frequente, foi encontrado em 10 das 37 populações do complexo, mas foi restrito a *M.e. ernestii* e *M.o. oreas* na porção central da Bahia, e com ocorrência mais ao norte na população MocJ. Os haplótipos H2 e H3 foram compartilhados entre as populações da região central de *M.o. oreas*, exceto MooRB, e de *M.e. ernestii* (p.e., MeeIp, MooIt). O H12 e H13 foram exclusivos da população MeeVC, e H7 foi exclusivo das populações MeeBM e MeeAl das chapadas no norte da distribuição de *M.e. ernestii*. G2 é formado por H6 a H8, H10 e H11, que são os únicos encontrados em todas as populações de *M. ernestii* subsp. *longicarpus* e na população MeeDB, e por H14 e H16, encontrados nas populações MeePA e MeeIta, e nas populações MeeMa, MeeBMD e MeeAl nos extremos sul e norte da distribuição do táxon *M.e. ernestii*, respectivamente (Fig. 1; Tabela 1). G3 é formado por H9 e H19, que são os únicos encontrados em *M. bahiensis* subsp. *bahiensis* e *M.b. amethystinus*, exceto por MbbRB (H1 de G1). G4 é formado por H15, exclusivo da população de MeePA e compõe 55% dos indivíduos; e G5 formado por H18, exclusivo da população Mco.

M.e. ernestii apresentou a maior riqueza haplotípica no complexo, que foi particionada entre as regiões sul (H14 a H16), região central (H1 a H5, H12 e H13), e região norte (H3, H14 e H17). A composição haplotípica foi similar entre populações sintópicas interespecíficas (p.e., MooRB e MbbRB; MeeIp e MooIp). As conexões entre os haplótipos H7, H10, H11 e H14 com H6 da face oeste da cadeia do espinhaço podem indicar um haplótipo mais antigo com expansão populacional recente. O mesmo se observa nas conexões entre os haplótipos H1, H2, H4, H5, H12 e H13 com H3 da Chapada Diamantina.

De acordo com os resultados da AMOVA (Tabela 2), uma grande proporção da variabilidade genética foi observada entre subespécies do complexo *M. oreas* (65,45%, $P < 0,001$), cerca de 29,40% ($P < 0,001$) reside entre as populações dentro das subespécies, e somente 5,15% ($P < 0,001$) foi observada dentro das populações. Resultados similares foram observados quando avaliamos os cinco haplogrupos. Valores de F_{ST} par-a-par entre populações variaram de $-0,071$ a $1,00$, e a maioria dos valores observados foram significativos ($P < 0,05$). A distância genética (F_{ST}) entre todas as populações do complexo foi associada positivamente com a distância altitudinal, mas a distância euclidiana ambiental não teve efeito (Tabela 3). As correlações também foram significativas e positivas entre distância F_{ST} e distância altitudinal no haplogrupo G1. Todas as outras correlações não foram significativas (Tabela 3).

O resultado da análise de autocorrelação espacial dos valores de diversidade haplotípica foi concordante com o resultado acima, mostrando uma associação positiva entre diversidade haplotípica (Hd) e distâncias geográficas na faixa de 177 Km (I Moran = $0,647$; $P = 0,001$; $IC_{95\%} = 1,172 - 0,552$). Adicionalmente, associações positivas entre Hd e distância linear entre populações também foram observadas ($r^2_{ajustado} = 0,818$; $P < 0,001$) reforçando o resultado do teste parcial de mantel; o que também se observa com o aumento da variação da temperatura e precipitação ($R^2_{ajustado} = 0,225$; $P = 0,015$). Nesse caso, populações mais ao sudoeste da distribuição do complexo e nas regiões de chapadas e serras apresentaram maior Hd (Fig. 1). Indicativo de expansão populacional para o complexo não foi observado a partir das análises de distribuição *mismatch*, pelo teste SSD (Fig. 2) e pelo índice de irregularidade ($Rh = 0,0295$; $Rh = 0,1466$).

Modelagem de nicho e paleodistribuição

O modelo de nicho apresentou acurácia elevada (AUC; $0,934 \pm 0,008$). As variáveis com maior contribuição foram bio_12 (44,9%), bio_11 (17,7%), bio_10 (11,8%) e bio_2 (10,5%). A partir das reconstruções paleoclimáticas do complexo *M. oreas* para o LIG e LGM, observamos diferenças nas distribuições ao longo do tempo. Como esperávamos, reduções das áreas potenciais foram observadas para o LIG, com expansão no LGM e posterior retração nos dias atuais (Fig. 3). Os nichos climáticos acima de 600 metros foram relativamente estáveis em todos os cenários, sempre associados com valores mais elevados de adequabilidade climática entre os modelos (superior a 50%) e de sobreposição de nicho, indicando possíveis áreas de refúgios.

Considerando a distribuição atual do complexo *M. oreas*, o modelo de distribuição para o LGM (Fig. 3 e 4) apresentou mudanças para elevações mais baixas (depressões sertanejas meridionais e setentrionais) em comparação ao modelo atual e LIG. Adicionalmente, áreas de maior probabilidade de ocorrência são evidente nos setores norte e sul da distribuição do complexo *M. oreas*. Elevada fragmentação do espaço ambiental com forte retração nas periferias e redução na área central de distribuição do complexo pode ser percebida no LIG em comparação com o LGM. No entanto, os Brejos de Altitude no norte da distribuição e chapadas e serras nas regiões central e sul persistiram durante o LIG.

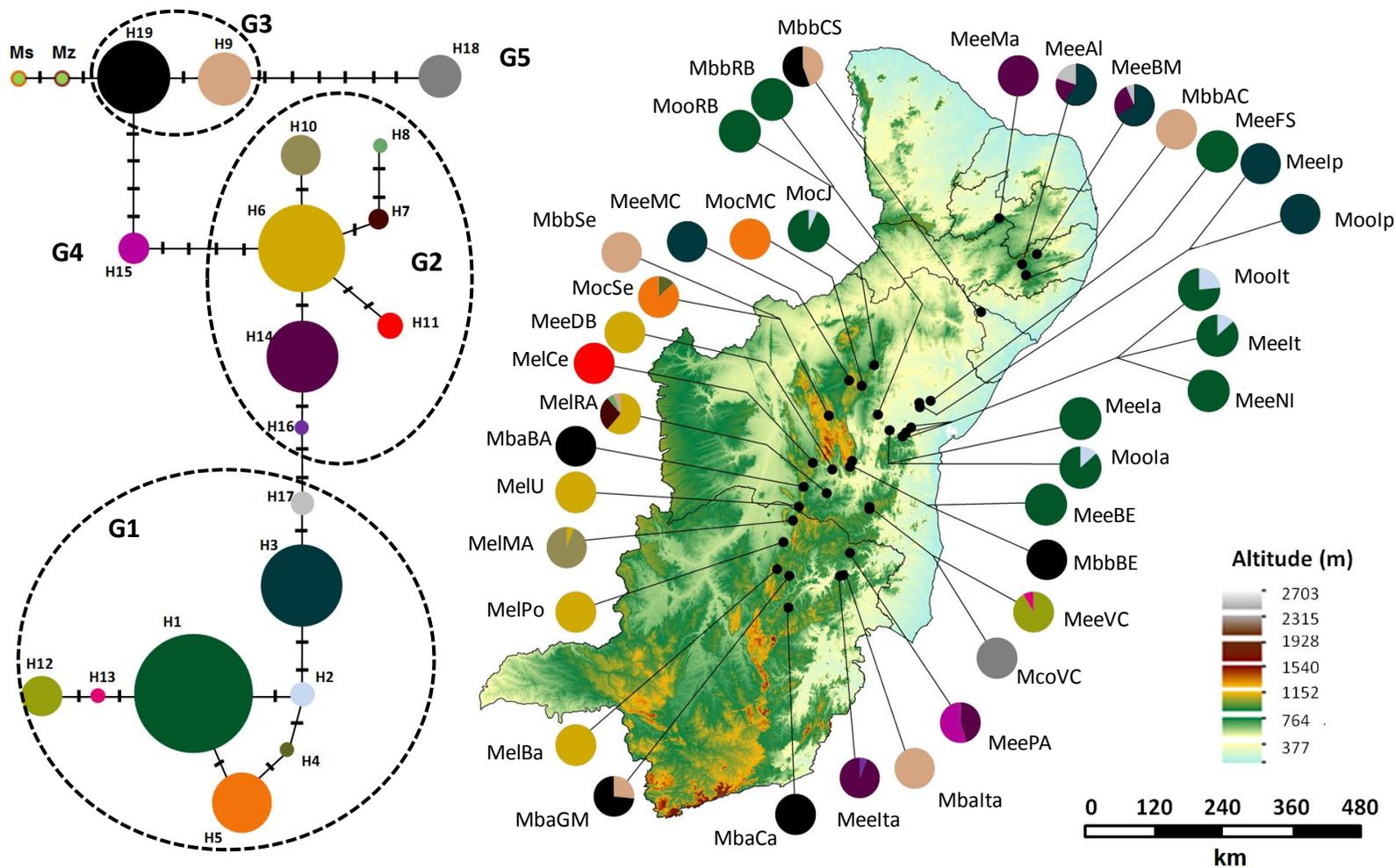


Figura 1 Median-joining networks com 95% de significância baseada no sequenciamento de 507 indivíduos a partir de 37 populações do complexo *Melocactus oreas* amostrados no leste do Brasil. O número de mutações é mostrado nos ramos. As amostras de um indivíduo de *Melocactus salvadorensis* (Ms) e *M. zehntneri* (Mz) foram incluídas como grupos externos. Mapa mostrando a distribuição dos haplótipos e a sua ocorrência em cada população. Ver Tabela 1 para informação sobre as populações.

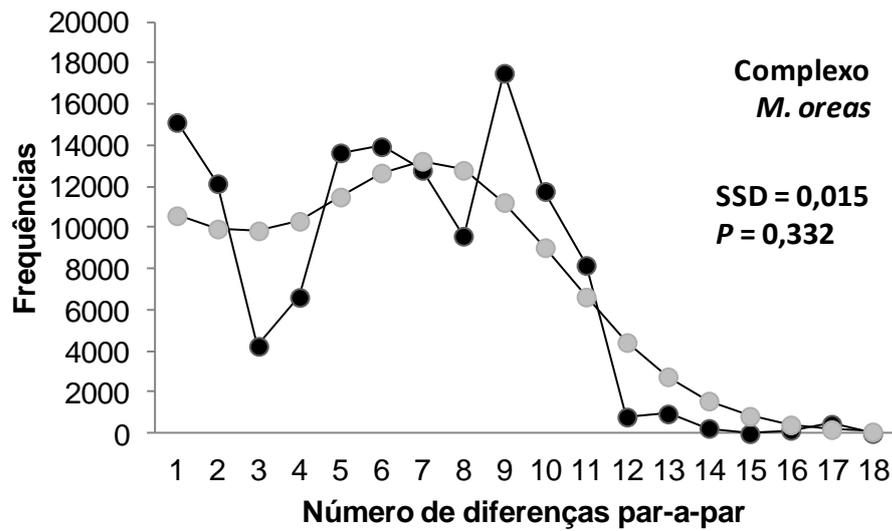


Figura 2 Resultado das distribuição *mismatch* par-a-par das sequências da rede de haplótipos (Fig. 1) de todo complexo *M. oreas*. Linha preta indica as diferenças observadas, e linha cinza a distribuição esperada sob um modelo de expansão demográfica histórica.

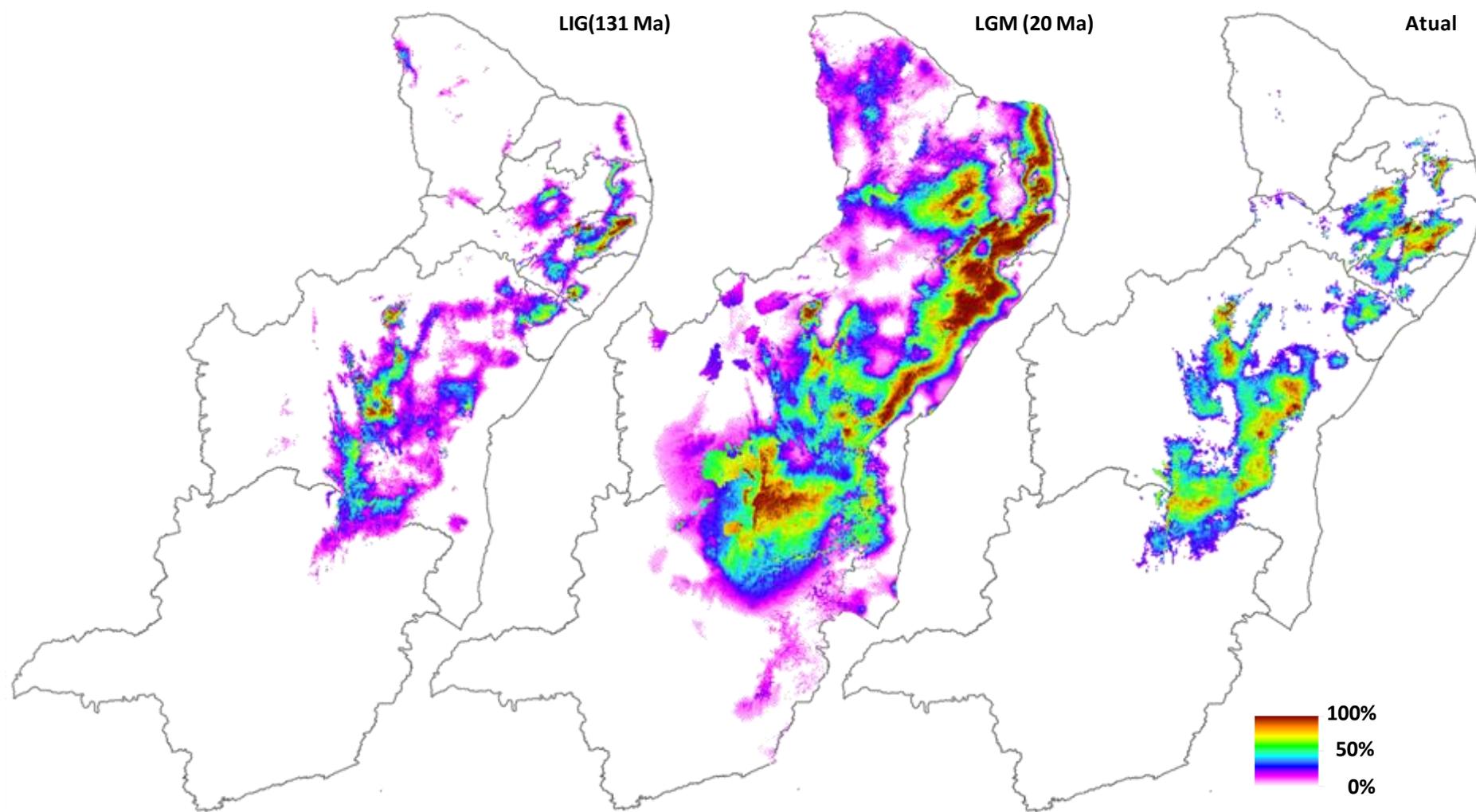


Figura 3 Reconstrução paleoclimática para o Último Interglacial (LIG) e Último Glacial Máximo (LGM) a partir das projeções de modelos de distribuição potencial atual do complexo *Melocactus oreas*. Cores indicam os valores de adequabilidade climática conforme a legenda.

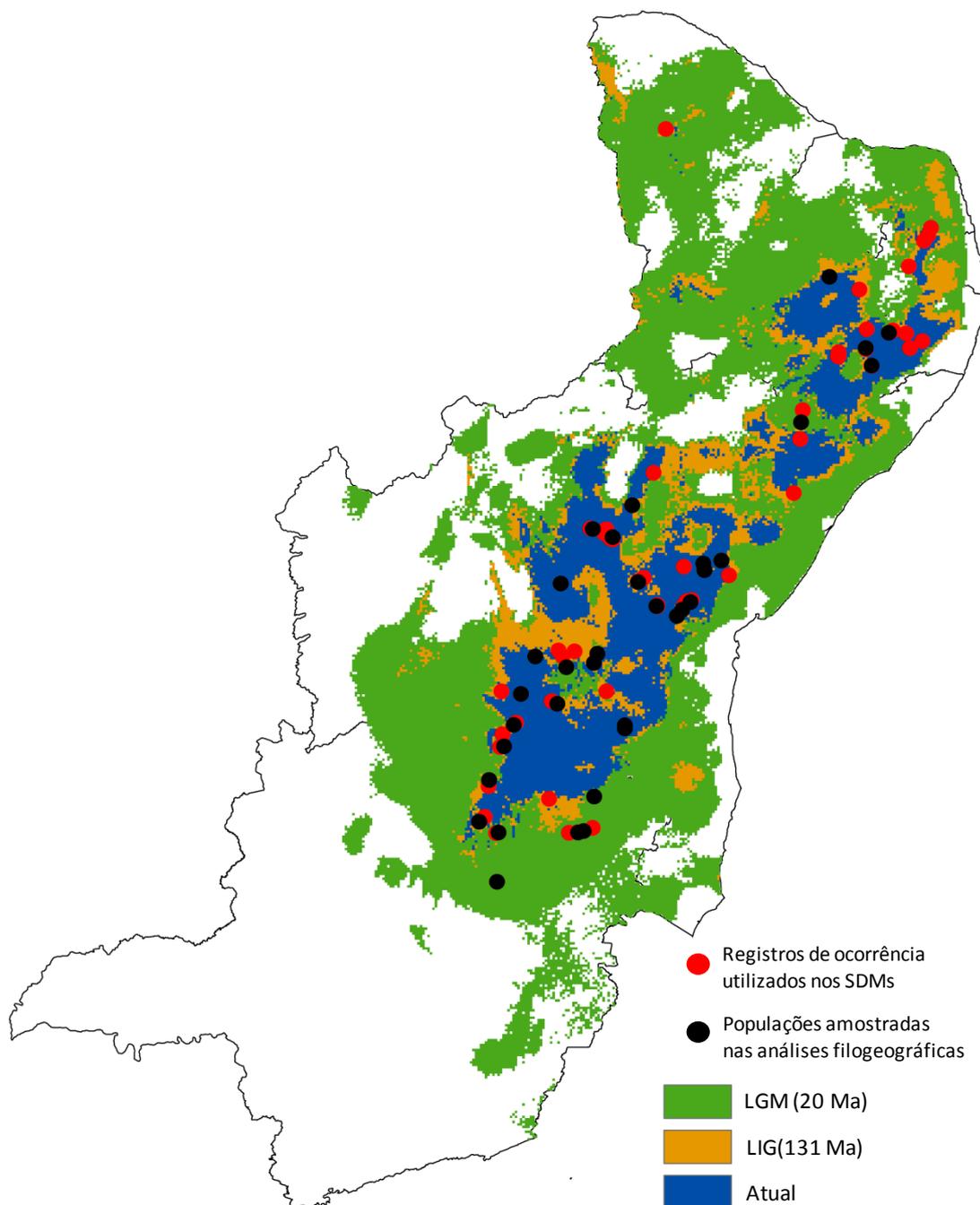


Figura 4 Mapa indicando as projeções do nicho climático atual do complexo *Melocactus oreas* durante o Último Interglacial (LIG) e Último Glacial Máximo (LGM). Cor azul indica o nicho climático atual e as áreas congruentes entre os três modelos. Cor laranja indica áreas de sobreposição entre LIG e LGM. Cor verde indica áreas projetadas somente para o LGM. Correlação e sobreposição de nicho (*I* de Warren) entre modelos: Hoje vs LIG (79%; 0,81), Hoje vs LGM (53%; 0,57), LGM vs LIG (56%; 0,61).

Tabela 1 Táxons estudados do complexo *Melocactus oreas*, acrônimos, número de indivíduos, coordenadas geográficas, altitude (acima do nível do mar), litotipo de cada localidade, variáveis bioclimáticas. N, número de indivíduos sequenciados por população e por táxon; *h*, número de haplótipos; *Hd*, diversidade haplotípica; π , diversidade nucleotídica (\pm SD). Acrônimos das populações correspondentes na Figura 1.

Táxons+ Acrônimos	N	Longitude	Latitude	Altitude (m)	Litotipo	Bio-1	Bio-4	Bio-12	Bio-15	<i>h</i>	<i>Hd</i>	π	<i>SD</i>
<i>M. b. amethystinus</i>	61												
MbaItao	16	-41,482306	-16,571056	252	Gr	24,5	18,42	891	77	1	0,0000	0,0000	0,0000
MbaGM	15	-42,902222	-16,594222	675	QF	21,9	17,5	1109	79	2	0,4190	0,0002	0,0002
MbaCa	15	-42,926250	-17,417972	613	QF	22,9	17,42	1133	79	1	0,0000	0,0000	0,0000
MbaBA	15	-42,526528	-14,266861	913	QFe	21,3	12,57	932	81	1	0,0000	0,0000	0,0000
<i>M. b. bahiensis</i>	37						0						
MbbRB	9	-40,576056	-12,382833	426	En	22,9	14,42	789	41	1	0,0000	0,0000	0,0000
MbbCS	9	-37,858390	-9,698893	232	Ar	25	18,12	594	41	2	0,5556	0,0003	0,0003
MbbAC	6	-36,682472	-8,740444	957	MGr	20,5	15,87	785	49	1	0,0000	0,0000	0,0000
MbbBE	8	-41,310444	-13,744083	924	Ar	20,9	12,6	774	62	1	0,0000	0,0000	0,0000
MbbSe	5	-41,864222	-12,406444	1026	Si	20,8	11,18	800	67	1	0,0000	0,0000	0,0000
<i>M. e. ernestii</i>	204						0						
MeeMC	15	-41,331472	-11,490861	883	Ar	21,1	13,13	670	70	1	0,0000	0,0000	0,0000
MeeDB	16	-41,771968	-13,81426	575	Mo	23,3	12,67	701	75	1	0,0000	0,0000	0,0000
MeeBE	15	-41,251944	-13,588639	928	Mar	20,8	12,26	825	58	1	0,0000	0,0000	0,0000
MeeVC	12	-40,793792	-14,788892	906	La	20,1	14,39	788	61	2	0,1667	0,0001	0,0001
MeePA	11	-41,306013	-15,991578	652	Ki	22,4	16,85	1005	70	2	0,5455	0,0015	0,0009
MeeNI	16	-39,926092	-12,953300	491	Or	21,8	13,94	661	46	1	0,0000	0,0000	0,0000
MeeMa	15	-37,384000	-7,252083	1073	Gr	20,5	13,15	836	95	1	0,0000	0,0000	0,0000
MeeIta	15	-39,701861	-12,719278	269	Or	23,1	14,57	677	39	2	0,2476	0,0001	0,0002
MeelItao	17	-41,576306	-16,594611	321	Gr	24,1	18,35	895	78	2	0,1176	0,0001	0,0001
MeeIp	15	-39,471111	-12,184306	248	Gn	23	15,76	684	25	1	0,0000	0,0000	0,0000
MeeIa	12	-40,268500	-12,789500	252	En	23,7	14,23	702	54	1	0,0000	0,0000	0,0000
MeeFS	15	-39,188833	-12,021000	193	Gn	23,5	15,57	779	23	1	0,0000	0,0000	0,0000
MeeBM	15	-36,393306	-8,189750	1004	Di	20,1	15,26	598	64	3	0,5143	0,0009	0,0006
MeeAl	15	-36,781000	-8,452167	699	Di	22,3	15,94	684	57	3	0,6000	0,0008	0,0006

Tabela 1 Continuação ...

Táxons				Altitude		Bio-	Bio-	Bio-					
Acrônimos	N	Longitude	Latitude	(m)	Litotipo	Bio-1	4	12	15	<i>h</i>	<i>Hd</i>	π	<i>SD</i>
<i>M. e. longicarpus</i>	86												
MelU	16	-42,648944	-14,785722	729	Or	22,9	11,47	928	82	1	0,0000	0,0000	0,0000
MelRA	17	-41,919417	-14,431972	528	Or	23,3	13,83	731	79	4	0,5956	0,0008	0,0006
MelPo	15	-43,058083	-15,710389	582	Gr	23,3	14,81	1026	83	1	0,0000	0,0000	0,0000
MelMA	17	-42,808528	-15,144694	805	Qr	22,7	12,34	956	80	2	0,1176	0,0001	0,0001
MelCe	6	-42,285496	-13,637466	972	Or	21,1	11,47	876	78	1	0,0000	0,0000	0,0000
MelBa	15	-43,221764	-16,414853	993	Gr	20,4	16,44	1127	81	1	0,0000	0,0000	0,0000
<i>M. o. cremnophilus</i>	45												
MocSe	15	-41,862889	-12,408028	1059	Ms	20,5	11,08	799	68	2	0,2476	0,0001	0,0002
MocMC	15	-40,999917	-11,627806	902	Ar	20,6	14,33	753	41	1	0,0000	0,0000	0,0000
MocJa	15	-40,671778	-11,090806	873	Ar	21,5	14,08	754	47	2	0,1333	0,0001	0,0001
<i>M. o. oreas</i>	59												
MooIta	15	-39,840111	-12,846250	362	En	22,6	14,23	662	45	2	0,2476	0,0001	0,0002
MooRB	13	-40,576056	-12,382833	421	En	23	14,36	791	41	1	0,0000	0,0000	0,0000
MooIp	16	-39,490230	-12,072690	338	Gn	23,3	14,19	703	39	1	0,0000	0,0000	0,0000
MooIa	15	-40,268500	-12,789500	252	En	23,7	14,23	702	54	2	0,2476	0,0001	0,0002
<i>M. conoideus</i>	15												
McoVC	15	-40,796833	-14,845611	1063	Qr	19,9	14,62	825	59	1	0,0000	0,0000	0,0000
Complexo <i>M. oreas</i>	507									25	0,8821	0,1802	0,0966

h = número de haplótipos; *Hd* = diversidade haplotípica; π = diversidade nucleotídica; *SD* = desvio padrão

Gr – Granitóide, QF – Quartzito ferruginoso, QFe – Quartzito feldspático, En – Enderbitto, Ar – Arenito, MGr – Metagranitóide, Si – Metasiltito, Mo – Monzogranito, Mar – Metarenito, La – Laterita, Ki – Kinzigito, Or – Ortognaisse, Gn – Gnaisse, Di – Diorito.

Tabela 2 Análise de variância molecular (AMOVA) baseado em cpDNA dos 7 táxons do complexo *Melocactus oreas* e nos cinco haplogrupos

	G.L.	Soma dos quadrados	Varição (%)	Índices de Fixação
complexo <i>Melocactus oreas</i>				
Entre subespécies	6	752,77	65,45	$\Phi_{CT}=0,65^*$
Entre populações dentro das subespécies	30	325,34	29,40	$\Phi_{SC}=0,85^*$
Entre populações	470	64,51	5,15	$\Phi_{ST}=0,95^*$
Haplogrupos				
Entre haplogrupos	4	809,04	76,35	$\Phi_{CT}=0,76^*$
Entre populações dentro dos haplogrupos	32	269,08	19,27	$\Phi_{SC}=0,81^*$
Entre populações	437	64,51	4,38	$\Phi_{ST}=0,96^*$

* $P < 0,0001$

Tabela 3 Coeficientes de correlação parcial de Mantel (Mantel r) e valores P a partir dos modelos causais. Topo = matriz de complexidade topográfica, F_{ST} = matriz de distância genética, Eucl = matriz de distância altitudinal. Valores em negrito utilizados quando todas as combinações são significantes. ‘X’ indica a correlação entre duas matrizes, e o ponto indica a terceira covariável que foi controlada.

	Mantel Parcial	r	P valor
Complexo <i>M. oreas</i>	Topo x Fst.Eucl	0.035	0.046
	Topo x Fst.Env	0.025	0.282
	Eucl x Fst.Topo	0.142	0.016
	Eucl x Fst.Env	0.139	0.017
	Env x Fst.Topo	0.023	0.301
	Env x Fst.Eucl	-0.013	0.422
Haplogrupo G1	Topo x Fst.Eucl	-0.035	0.366
	Topo x Fst.Env	-0,097	0,178
	Eucl x Fst.Topo	0,223	0,049
	Eucl x Fst.Env	0.238	0,046
	Env x Fst.Topo	0,044	0,276
	Env x Fst.Eucl	-0.026	0.435
Haplogrupo G2	Topo x Fst.Eucl	0,078	0,366
	Topo x Fst.Env	-0,059	0,367
	Eucl x Fst.Topo	0,267	0,174
	Eucl x Fst.Env	0,225	0,257
	Env x Fst.Topo	0,178	0,244
	Env x Fst.Eucl	0,112	0,335
Haplogrupo G3	Topo x Fst.Eucl	-0,385	0,056
	Topo x Fst.Env	-0,431	0,044
	Eucl x Fst.Topo	-0,000	0,538
	Eucl x Fst.Env	0,125	0,288
	Env x Fst.Topo	0,201	0,193
	Env x Fst.Eucl	0,110	0.302

Discussão

A diversidade genética no complexo *Melocactus oreas*, a partir das regiões plastidiais sequenciadas (*trnS-trnG*, *trnT-psbD* e *atpL-atpH*), pode ser considerada alta e similar a outros estudos com espécies vegetais na América do Sul (p.e., Cosacov et al. 2013; Bonatelli et al. 2014; Longo et al. 2014). A utilização de múltiplos loci proporcionou maior resolução na reconstrução da história demográfica do complexo *M. oreas*, o que é importante frente à limitada divergência em sequências plastidiais como reportado para outras espécies de cactos (Ritz et al. 2007; Helsen et al. 2009a; Bonatelli et al. 2014). Essa baixa diversidade plastidial em cactos tem sido associada com eventos recentes de diversificação no Mioceno tardio (10 – 5Ma AP) e Plioceno (5 – 2 Ma AP) (Arakaki et al. 2011). Estas épocas compreendem o desenvolvimento e expansão dos principais núcleos áridos reconhecidos atualmente no Neotrópico (p.e., deserto de Sonora, Chaco, Semi-árido no leste do Brasil), com forte influência do soerguimento dos Andes para formação dos núcleos áridos da América do Sul. Estas épocas são marcadas pelo declínio acentuado do CO₂ atmosférico (Tripathi et al. 2009). Este declínio pode ter proporcionado uma forte vantagem competitiva para espécies com sistema fotossintético tipo C4 e rápida diversificação de linhagens nos novos nichos em formação (Lüttge 2004; Arakaki et al. 2011).

Os três principais filogrupos observados na rede de haplótipos apresentaram correspondência com o clima, o que ficou evidente na associação positiva da diversidade haplotípica (*Hd*) com o aumento da variação da temperatura e precipitação anual. Neste caso, as populações mais ao sudoeste da distribuição do complexo e nas regiões de chapadas e serras apresentaram maior *Hd*. Maior diversidade morfológica também foi observada nestas mesmas populações (Capítulo 4). As populações dos haplogrupos G2 e G3, localizadas em latitudes abaixo de 14° e acima 9°, estão associadas com maior irregularidade da precipitação (74% ± 12 mm) e maior quantidade de chuva anual (1133 – 598 mm). As populações do G1

estão associadas a áreas com menor irregularidade ($48\% \pm 13$ mm) e menor quantidade de chuva anual (932 – 661 mm) (Capítulo 3). Essa descontinuidade centro-periférica pode estar associada a uma faixa geográfica com reduzida precipitação (300 a 500 mm) entre as latitudes 11° a 9° , e a 13° de latitude (Velloso et al. 2002), e pela floresta atlântica a leste e Chapada Diamantina a oeste. Por exemplo, a separação observada entre *M. oreas* subsp. *oreas* e subsp. *cremnophilus* foi atribuída à formação de florestas tropicais na porção central da Caatinga (Taylor & Zappi 2004). Descontinuidades genéticas também têm sido reportadas para outras espécies na América do Sul (p.e., Pröhl et al. 2010; Sérsic et al. 2011; Cosacov et al. 2013) e no leste do Brasil (Borba et al. 2001; Barbosa et al. 2012; Bonatelli et al. 2014; Pinheiro et al. 2014), inclusive responderam tanto ao isolamento por distância quanto ao isolamento ecológico e topográfico na paisagem.

A associação positiva entre a distância altitudinal com a distância genética (F_{ST}) foi concordante com a maior proporção de haplótipos fixados nas populações de serras e chapadas, sugerindo que populações isoladas e pequenas persistiram nestas áreas. A partir das análises demográficas fornecemos evidências da expansão do complexo no leste do Brasil, e que a diversificação dentro do complexo foi particularmente afetada por processos históricos de fragmentação, colonização e extinção, principalmente na região central com prevalência de populações monomórficas. Esses processos de fragmentação histórica e efeito da deriva gênica em populações pequenas isoladas de *Melocactus paucispinus* também foram pontuados como evidências para a fixação de alelos e distância genética entre populações (Lambert et al. 2006a).

A maior diversidade genética e haplótipos exclusivos observada nas áreas de chapada (i.e. Chapada Diamantina e Borborema) também pode ser explicada pelos modelos de paleodistribuição. Neste caso, as áreas de chapadas foram climaticamente estáveis durante o Pleistoceno e podem ter atuado como refúgios no leste do Brasil, considerando a elevada

possibilidade de extinção nas áreas centrais de terras baixas durante os interglaciais (p.e., Serra das Matas e de Ibiapaba; Fig. 1, Capítulo 3). Este padrão de retração e expansão também foi concordante com o observado para a orquídea *Epidendrum secundum* no semi-árido brasileiro (Pinheiro et al. 2014). Evidências moleculares similares de retração-expansão populacional durante o LIG e LGM também foram encontradas em espécies de plantas associadas com ambientes rochosos no bioma Cerrado, por exemplo, no complexo *Pilosocereus aurisetus* (Bonatelli et al. 2014), e em *Lychnophora ericoides* e *Tibouchina papyrus* (Collevatti et al. 2009; 2012). Em todos os casos, com padrões consistentes entre partição geográfica do polimorfismo genético e perda de diversidade genética nas populações periféricas.

Outra evidência da expansão de linhagens no leste do Brasil pode ser observada na ocorrência do haplótipo H6 na população MeeDB. Esta ocorrência reforça a hipótese de divergência alopátrica das linhagens do par de *Melocactus ernestii*, e aponta a região central da distribuição como uma zona de contato secundário durante o LGM. Um caso particular pode ser observado na elevada diversidade genética da população MelRA, o que pode ser explicado por eventos de introgressão/hibridização com *M. bahiensis* (haplótipo H9) no passado. Essa mesma área geográfica foi indicada como de sobreposição potencial dos nichos climáticos atuais de *M. ernestii* e *M. bahiensis* (Capítulo 3), mas essas espécies não ocorrem em simpatria atualmente (Taylor & Zappi 2004). Além disso, indivíduos de *M. salvadorensis* são encontrados às margens dos afloramentos em MelRA, e ocasionalmente híbridos podem ser formados (Taylor & Zappi 2004). Por fim, essa área apresenta baixa adequabilidade histórica e pode ter passado por múltiplos eventos de colonização e extinção, e a elevada diversidade genética em MelRA pode estar associada com a sua disposição central. Eventos de hibridização e introgressão, são comuns em cactáceas (Machado 2008), e também foram

sugeridos por Lambert et al. (2006a,b) para explicar os padrões discrepantes em populações de *Melocactus paucispinus*.

A acentuada retração das áreas potenciais no setor norte é congruente com a hipótese de eventos de extinção em massa proposta por Taylor & Zappi (2004) para explicar o baixo número de espécies de cactos neste setor. Consequentemente, os padrões de expansão do complexo *M. oreas* estão mais relacionados com os regimes de precipitação e aridização, o que é consistente com a hipótese da diminuição da vantagem competitiva no LIG. Isto também é concordante com a importância dos fatores climáticos (p.e., disponibilidade hídrica) e biogeoquímicos (p.e., ciclagem de nutrientes) que atuam como reguladores da dinâmica desses ecossistemas (Maestre et al. 2012; Delgado-Baquerizo et al. 2013). Por exemplo, não observamos espécies do complexo *M. oreas* em áreas com níveis de precipitação abaixo de 300 mm por ano e com 9 a 10 meses de seca, o que pode representar um limite para a manutenção de populações viáveis destes cactos.

A partir da rede de haplótipos também indicamos a possibilidade de dispersão por longas distâncias para *M. bahiensis*, o que contraria a hipótese alopátrica utilizada na separação dos pares de *M. bahiensis* (*sensu* Taylor & Zappi 2004). Além disso, e para o caso do padrão disjunto dos haplótipos observados nas populações dos extremos de *M. ernestii* subsp. *ernestii*, também consideramos a possibilidade de se tratar de populações ancestrais de uma linhagem mais amplamente distribuída e fragmentada pelas oscilações climáticas do passado. A hipótese de dispersão de sementes por longas distâncias foi considerada para explicar as ocorrências disjuntas no leste do Brasil (Taylor & Zappi 2004). No entanto, mesmo que a dispersão ocorra de maneira generalizada, as flutuações climáticas e a divergência ecológica entre os táxons do complexo *M. oreas* (Capítulo 3) podem ter contribuído para a ausência de haplótipos exclusivos das regiões de serras e extremos de distribuição (H14 a H17) nas porções centrais da distribuição do complexo (Sexton et al.

2014). Por exemplo, o padrão dos haplótipos associados às populações do táxon *M. ernestii* subsp. *longicarpus* com ocorrência restrita à face oeste da cadeia do espinhaço. Por outro lado, acreditamos que o baixo compartilhamento de haplótipos entre espécies, com exceção do padrão claro de mistura entre *M. ernestii* subsp. *ernestii* e *M. oreas* subsp. *oreas*, seja efeito do pronunciado isolamento reprodutivo e deriva genética em populações pequenas e isoladas e sob pressões ecológicas divergentes.

Por fim, o padrão evidente de persistência destas populações ancestrais nas áreas de serras e chapadas no leste do Brasil durante os interglaciais, com posterior expansão durante os períodos glaciais parece refletir o comportamento de espécies xerófilas no leste do Brasil (Collevatti et al. 2009; 2012; Barbosa et al. 2012; Bonatelli et al. 2014; Pinheiro et al. 2014). A partir das evidências comuns encontradas nesses trabalhos, a hipótese da diminuição da vantagem competitiva nos interglaciais pode explicar melhor os padrões genéticos de espécies xerófilas da caatinga e cerrado, onde climas mais frios e secos durante as mudanças climáticas do Pleistoceno teriam impulsionado a redução na cobertura florestal e favorecido a expansão dessas comunidades xerófilas (Clapperton 1993; Pennington et al. 2009; Behling 2003). Os padrões de expansão demográfica durante o Último Glacial Máximo com reduções nos interglaciais, associados com as áreas de refúgio nas chapadas e serras, reforçam a necessidade de determinar estas áreas como prioritárias em planos de conservação (Hampe & Jump 2011).

Implicações taxonômicas

A delimitação morfológica atual das espécies do complexo *M. oreas*, em geral, foi congruente com as diferenças genéticas obtidas a partir dos marcadores plastidiais utilizados. Mas, não existe uma relação clara entre todos os pares infraespecíficos sugeridos no sistema de classificação atual (Taylor & Zappi 2004). Esta congruência foi observada na associação

positiva entre a diversidade morfológica (D2; Capítulo 4) com F_{ST} ($r = 0,124$; $P = 0,0014$), e nos resultados da AMOVA, com maior parte da variação ocorrendo entre subespécies. Padrão similar foi observado quando consideramos os haplogrupos, principalmente pela forte correspondência entre estes e as espécies. Esse comportamento de variação morfológica e genética no complexo *M. oreas* pode estar associado com eventos estocásticos de colonização (p.e., deriva genética) e isolamento geo-topográfico das populações gerando forte estruturação genética e morfológica, igualmente reportado por Lambert et al. (2006a) para *M. paucispinus*.

A separação entre subespécies de *M. ernestii* foi suportada pela divergência de nicho (Capítulo 3), por diferenças morfológicas (Capítulo 4) e variação haplotípica, o que também se observa entre as subespécies de *M. oreas*. Essa forte congruência entre os dados por outro lado, não foi detectada entre as subespécies de *M. bahiensis*, que apresentaram baixa diversidade plastidial e morfológica com elevada divergência de nicho, e entre as populações de *M. ernestii* subsp. *ernestii* e *M. oreas* subsp. *oreas* da região central, que apresentaram baixa divergência plastidial com elevada diferença morfológica em um nicho climático conservado. Dessa forma, eventos recentes de radiação adaptativa (Arakaki et al. 2011) podem ter sido acompanhados por rápida diferenciação morfológica associada com pouca variação genética, ao menos nos marcadores utilizados. Essa discrepância entre morfologia e variação genética também foi descrita por Helsen et al. (2009a; b) em variedades infraespecíficas de *Opuntia echios*, por Lambert et al. (2006a) para *Melocactus paucispinus* e *M. concinnus*, e por Longo et al. (2014) para o complexo *Petunia integrifolia*.

A elevada plasticidade dos caracteres morfológicos utilizados na taxonomia do complexo *M. oreas*, majoritariamente contínuos, podem ter contribuído para as discrepâncias observadas. Esta plasticidade tem causado confusões taxonômicas, e nesses casos o uso de abordagens taxonômicas integrativas (de Queiroz 2007; Padial et al. 2010), contribuiu para o maior entendimento da variabilidade morfológica no complexo e suas partições geográficas.

A partir de múltiplas abordagens envolvendo atributos climáticos, variabilidade morfológica e diversidade plastidial do complexo *Melocactus oreas* (Capítulo 4) consideramos a(o): inconsistência de identificações taxonômicas e necessidade de melhor enquadramento de algumas populações; desmembramento de táxons com ampla distribuição em categorias infraespecíficas não formais. Os enquadramentos apresentados a seguir são conclusões provisórias, e devem ser contrastadas com marcadores neutros mais variáveis do genoma nuclear (p.e., microssatélites).

O par coespecífico da espécie *Melocactus bahiensis* (Britton & Rose) Luetzelb. (1926) é relativamente uniforme morfológicamente (Capítulo 4), apesar de ocuparem nichos fortemente divergentes (Capítulo 3), e não apresentaram divergência plastidial congruente (Capítulo 5). Embora Taylor & Zappi (2004) tenham alertado para o padrão hipervariável da espécie, o que acarretou na separação posterior de três novas espécies (Hunt et al. 2006): *M. inconcinus*, *M. brederooianus* e *M. braunii*, e *M. bahiensis* (subdivida em *M. bahiensis* subsp. *bahiensis* e *M. bahiensis* subsp. *amethystinus*), o reconhecimento destes grupos taxonômicos formais pode indicar táxons discretos que não representam linhagens evolutivas independentes. Mesmo que a população do tipo de *M. bahiensis* subsp. *bahiensis* e as populações dos tipos das três espécies criadas por Hunt et al. (2006) não tenham sido avaliada neste estudo, populações próximas (~80 km) foram incorporadas, bem como dos extremos de distribuição. Nesse sentido, assumimos que os táxons infraespecíficos de *M. bahiensis* não devem ser reconhecidos formalmente. Mas, existe a necessidade de um maior esforço amostral e inclusão de representantes de todos os nomes específicos e infraespecíficos envolvidos na história taxonômica de *M. bahiensis*. Esta decisão foi suportada por uma abordagem congruente e integrativa dos três conjuntos de dados produzidos (modelagem de nicho climático, caracterização morfológica e de sequências plastidiais).

Uma população (MocJ) designada para o táxon infraespecífico *M. oreas* subsp. *cremnophilus* foi melhor enquadrada em *M. ernestii* subsp. *ernestii* a partir dos modelos de nicho ecológico, padrão morfológico e haplotípico. Nesse contexto, *M. oreas* subsp. *cremnophilus* fica ainda mais restrita pelo componente altitudinal (900 - 1100 m) em relação à subespécie típica. Os pares foram reconhecidos como distintos e com elevada congruência entre os três conjuntos de dados. Todos os nomes associados com a história taxonômica do par, atualmente sinonimizados, foram estudados (ver Taylor 1991; Taylor & Zappi 2004). Além disso, *M. oreas* subsp. *oreas* apresenta moderada correspondência morfológica com *M. ernestii* subsp. *ernestii* (ver abaixo) e pode ser reconhecido como um padrão morfológico associado a ambientes mais secos e quentes.

Desta forma, em função do grau de divergência ecológica, morfológica e genética desta população concluímos que *M. oreas* subsp. *cremnophilus* deve manter o status subspecífico (subsp. *cremnophilus* (Buining & Brederoo) P. J. Braun). Assim, esta espécie representará mais uma na lista de espécies endêmicas associadas aos refúgios climáticos na Chapada Diamantina (município de Morro do Chapéu).

A espécie *Melocactus ernestii* Vaupel (1920) apresentou um padrão hipervariável, associado à ampla distribuição geográfica da espécie e elevada heterogeneidade da paisagem onde ocorre. As populações que ocorrem em áreas de serras nos extremos de distribuição foram altamente variáveis morfológicamente quando comparado com as populações centrais. Além disso, o compartilhamento de haplótipos entre estes setores foi reduzido e congruente com a morfologia.

M. ernestii subsp. *longicarpus* apresenta um conjunto de populações na face leste do Espinhaço com elevada divergência morfológica e haplotípica, e ocupa uma área com reduzida similaridade ecológica à subespécie típica. A população MeeVC (Vitória da Conquista) é próxima morfológicamente de *M.e. longicarpus*. Entretanto, essa população é

isolada ecologicamente e apresenta um conjunto de haplótipos exclusivos (H12 e 13) associado com eventos de expansão de populações restritas a áreas de Chapadas e Serras na região central (H1), mais provavelmente de MeeBE. Dessa forma, não foi possível o reconhecimento de táxons subespecíficos, uma vez que as análises empregadas não sustentaram padrões intermediários de variação.

Nesse sentido, concluímos que o táxon infraespecífico *M. ernestii* subsp. *longicarpus* deve retornar ao status específico determinado como *Melocactus longicarpus* Buining & Brederoo (1974).

Parte da variação observada em *M. ernestii* subsp. *ernestii* pode ser particionada em dois componentes: C1, conjunto de populações próximas morfologicamente ao tipo do táxon (MeeBE) e associadas com a área central e Chapara Diamantina; C2, conjunto de populações dos extremos de distribuição próximas morfologicamente de *M. azulensis* Buining, Brederoo & S. Theun. (1977) do Município Pedra Azul – MG, sinonimizada com *M. ernestii* subsp. *ernestii*. Essas populações nos brejos de altitude no norte da distribuição apresentam uma assinatura genética distinta das populações centrais, e indivíduos desses dois componentes morfológicos co-ocorrem nas populações MeeAl e MeeBM. Nestas populações não ocorrem híbridos evidentes e essas duas formas ocorrem em grande quantidade (n > 100 indivíduos adultos).

Essas espécies apresentaram diferenciação morfológica parcialmente congruente e ocorrem em simpatria na porção central do complexo *M. oreas*. Além disso, apresentam elevada similaridade ambiental e elevado compartilhamento de haplótipos. Nesse caso, podem representar duas linhagens que ficaram isoladas em nichos conservados nas áreas de Chapadas com posterior contato secundário.

O padrão de variação sintópica ocorre de maneira discreta e indivíduos são facilmente identificados. Dessa forma, as duas espécies devem permanecer reconhecidas, mas necessitam

de estudos mais aprofundados (p.e., uso de marcadores neutros mais variáveis do genoma nuclear, sistema reprodutivo) para uma mais clara delimitação taxonômica e determinação da sua área total de ocorrência.

Tabela Suplementar 1 Haplótipos encontrados nas populações do complexo *M. oreas*, e suas respectivas frequências. Números de sítios polimórficos indicados para cada região intergênica cloroplastidial (*trnS-trnG*, *atpL-atpH*, *trnT-psbD*) e pontos indicam estados de caráter idênticos ao haplótipo H1. Ver Tabela 1 e Figura 1 para nomes e localização das populações. 379-380*: Indel Poli T, em que ‘-’ indica a condição T₉, e T, e TT indicam a presença de uma e duas bases adicionais, respectivamente. †, indel de 6 bases.

Hap.	<i>trnS-trnG</i>														<i>atpL-atpH</i>		<i>trnT-psbD</i>						Freq.	Pops			
	78	88	103	110	131	279	281	317	329	354	359	395	480	605	662	325	379-380*	151	174	179-184	259	337			396	483	
H1	G	A	T	A	T	C	A	C	A	A	C	C	T	G	G	A	T	A	C	.	G	G	C	A	133	Moo (RB, Ia, It); Mbb (RB); Moc (J); Mee (FS, It, NI, Ia, BE)	
H2	C	-	7	Moo (It, Ia); Mee (It); Moc (J)
H3	T	C	.	C	C	T	65	Mee (MC, Ip, Al, BM); Moo (Ip)
H4	T	C	TT	2	Moc (Se)
H5	TT	28	Moc (Se, MC)
H6	.	C	G	.	.	A	C	TT	73	Mel (Ba, Po, U, RA); Mee (DB)
H7	.	C	G	.	.	A	A	C	T	5	Mel (RA)
H8	.	C	.	.	.	A	A	.	.	T	.	C	TT	1	Mel (RA)
H9	.	C	G	T	.	C	-	.	.	.	T	A	A	.	36	Mba (GM, Ita); Mbb (Se, CS,AC)	
H10	.	C	G	.	.	A	A	.	.	.	C	TT	16	Mel (MA)
H11	.	C	G	.	.	A	C	T	.	A	†	6	Mel (Ce)
H12	G	A	TT	11	Mee (VC)
H13	G	T	1	Mee (VC)
H14	.	C	G	.	.	A	C	TT	C	43	Mee (Ita, PA, BM, Al, Ma)
H15	.	C	G	.	.	A	C	TT	.	.	.	T	A	A	C	6	Mee (PA)	
H16	.	C	G	C	T	C	1	Mee (Ita)
H17	.	C	.	C	C	T	C	4	Mee (BM, Al)
H18	.	C	G	G	G	G	.	.	.	T	.	C	TT	.	.	.	T	.	A	.	15	Mco (VC)	
H19	.	C	G	T	.	C	TT	.	.	.	T	A	A	C	54	Mbb (CS, BE); Mba (Ca, GM, BA)	
Ms	.	C	G	T	T	.	TT	.	.	.	T	A	A	C	1	<i>M. salvadorensis</i>	
Mz	.	C	G	T	T	C	TT	.	.	.	T	A	A	C	1	<i>M. zenthneri</i>	

APÊNDICE

Apêndice 1. Protocolo Conjugado para Maximizar Extração de DNA Genômico de *Melocactus* (Cactaceae)

Procedimentos Laboratoriais

Extração de material genômico

A extração de DNA genômico é um passo crucial quando se deseja realizar estudos de marcadores moleculares. Em particular, a extração de DNA a partir de tecido vegetal de cactáceas, se considera um procedimento relativamente difícil, devido à elevada quantidade de polissacarídeos e metabólitos secundários neste grupo taxonômico, que formam complexos insolúveis com os ácidos nucleicos durante o processo de extração (De la Cruz et al. 1997). Estes contaminantes inibem a ação de enzimas de restrição e da Taq polimerase dificultando o processo de amplificação genômica por PCR (Primark 1995). Entre os protocolos reportados para extrair DNA de tecido vegetal de Cactaceae encontram-se o de De la Cruz et al. (1997), Cota-Sánchez et al. (2006) e Russel et al. (2010).

Amostras secas em sílica gel de indivíduos de *Melocactus ernestii* subsp. *longicarpus* foram utilizadas para testes dos protocolos de De la Cruz et al. (1997) adaptado para mini-preparações por Cota-Sánchez et al. (2006) que se baseia no uso de CTAB para produzir a lise celular, e o método de Russel et al. (2010) que utiliza etapa inicial com lavagem da amostra com Sorbitol. Um protocolo combinando os dois anteriores gerou maior quantidade e qualidade de DNA genômico. Utilizamos aproximadamente 100 mg de tecido seco em sílica gel. Amostras foram trituradas com nitrogênio líquido e adicionado 1 mL de tampão Sorbitol (Tris base 100mM, Sorbitol 100mM, EDTA 5 mM, 2-β mercaptoetanol a 2% e PVP – 40 a 1%) e transferida para tubo de 2 mL, com centrifugação por 10 min. a 3.000 g. O sobrenadante foi descartado e adicionado 1mL do tampão Sorbitol com posterior homogeneização; este procedimento foi repetido até a não visualização de mucilagem nas

amostras. Após etapas de lavagem foi adicionado 200 μ L de CTAB (100 mM de Tris-HCL, 20 mM de EDTA, pH 8.0, 2% CTAB, 1,5 NaCl, 4% PVP-40 e 10mM 2- β mercaptoetanol) e adicionado 5 μ L de 2- β mercaptoetanol por amostra. Adicionado 800 μ L de tampão STE (100 mM Tris-HCL, 50 mM de EDTA, pH 8.0, 100 mM de NaCl, 10 mM 2- β mercaptoetanol) e homogeneizado, adicionado 50 μ L de 20% SDS (dodecil sulfato de sódio) com homogeneização vigorosa por 7 min. As amostras foram incubadas em banho maria a 65 °C por 15-20 min., com homogeneização em intervalos de 5 min., foi adicionado 415 μ L de acetato de potássio gelado a 3 M e incubado em bandeja de gelo por 40 min. As amostras foram centrifugadas por 20 min. a 12.000 rpm para remoção do debris celular e remoção do sobrenadante cuidadosamente. 1:1 volume de isopropanol gelado foi adicionado, misturado gentilmente e incubado a - 20 °C por 40 min. para precipitação de DNA genômico. Spin de 12.000 rpm por 20 minutos com posterior descarte do sobrenadante. Pellet seco a temperatura ambiente e ressuspendido em 500 μ L de tampão TE pH 8.0 (100 mM Tris, 1 mM de EDTA). As amostras foram extraídas com 1 volume de clorofórmio-álcool isoamílico (24:1), misturado gentilmente e posterior spin de 10.000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi transferido para um tubo de 1.5 mL e adicionado 65 μ L de acetato de sódio a 3 M e 600 μ L de isopropanol gelado e misturado gentilmente e incubado overnight a -20 °C. Spin de 12.000 rpm por 20 min. e posterior lavagem do pellet com 1mL de etanol gelado (96%). Lavar novamente com 1mL de etanol gelado (75%) e Spin 12.000 rpm por 5 min. Pellet seco a temperatura ambiente e ressuspendido com 150 μ L de TE.

Amplificação de PCR e Sequenciamento

Ver Tabela A1 para primers utilizados neste estudo. Os fragmentos das regiões plastidiais trnS-trnG, trnH-psbA, atpL-atpH e trnT- psbD (Shaw et al., 2007) foram amplificados através de reação em cadeia da polimerase – PCR, em um volume total de

reação de 30 µL contendo 1,5 µL de DNA genômico (100 ng/µL), 3 µL de Tampão IB (10x), 0,6 µL de MgCl₂ (50mM) e dNTPs (10 mM), 0,3 unidade de Taq (5U/µL), 1,5 µL de primer senso e antisenso (15 µM), 1,2 µL de BSA (4mg/mL) e H₂O q.s.p. O perfil de amplificação consistiu de 40 ciclos compostos dos seguintes passos: atpL-atpH (30 seg. a 94°C; 40 seg. a 51°C; e 40 seg. a 72°C, sendo estes precedidos por um passo inicial de 1 min. a 94°C para a homogeneização da temperatura do bloco e seguidos por um passo final de 5 min. a 72°C) e trnG-trnS (45 seg. a 94°C; 40 seg. a 51°C; e 90 seg. a 72°C, sendo estes precedidos por um passo inicial de 1 min. a 94°C para a homogeneização da temperatura do bloco e seguidos por um passo final de 5 min. a 72°C para polimerização de eventuais moléculas das quais a polimerase tenha se dissociado antes do final da síntese total do fragmento). Não obtivemos êxito na amplificação nas regiões plastidiais trnQ-rps16, trnC-rpoB, psbJ-petA, trnV-ndhC, rpL32-ndhF e petL-psbE (Shaw et al., 2007). Produtos de PCR foram purificados com o protocolo EDTA (Biosystems) e analisados em um sequenciador ABI BigDye Terminators 3730XL seguindo as especificações do fabricante. Para confirmar as mutações observadas, cada amostra foi sequenciada com ambos os iniciadores, senso e antisenso.

Tabela A1. Primers utilizados neste estudo a partir de Shaw et al. (2007). Primers avaliados em etapa preliminar de seleção de regiões mais informativas e com maior sucesso nas reações da PCR. Regiões selecionadas para amplificação das 30 populações e 352 espécimes em destaque. Teste de polimorfismo realizado em 28 indivíduos de 12 espécies.

Primers	Sequência	pB	C	V	VC	PI	PiC
trnG(UUC)	5'- GTAGCGGGAATCGAACCCGCATC -3'	864	565	22	13	8	6
trnS(GCU)	5'- AGATAGGGATTTCGAACCCTCG -3'						
psbA	5'- GTTATGCATGAACGTAATGCTC -3'	384	379	5	0	2	0
trnH(GUG)	5'- CGCGCATGGTGGATTCAACAATCC -3'						
atpL	5'- TATTTACAAGYGGTATTCAAGCT -3'	583	430	14	1	5	1
atpH	5'- CCAAYCCAGCAGCAATAAC -3'						
psbD	5'- CTCCGTARCCAGTCATCCATA -3'	650	625	16	5	9	5
trnT(GGU)	5'- CCCTTTAACTCAGTGGTAG -3'						

pB = pares de base, C = sítios conservados, V = sítios variáveis, VC = sítios variáveis dentro do complexo *Melocactus oreas*, PI = sítio parsimônia informativo, PiC = sítio parsimônia informativo dentro do complexo.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir dos padrões de divergência fenotípica interespecífica apresentados neste estudo, juntamente com os modelos de distribuição de espécies, compartilhamento de haplótipos e modelos de paleodistribuição, produzimos um sólido corpo de evidências que sustentam a divergência de nicho ecológico em alopatria como modelo especiativo predominante no complexo *Melocactus oreas*. A maior diversidade genética e variabilidade morfológica dos cactos estudados foi observada nas áreas de chapadas e serras no leste do Brasil. Evidências similares foram encontradas na maioria dos trabalhos envolvendo espécies vegetais rupícolas de comunidades xerofílicas, reforçando o efeito direcionador das mudanças climáticas ocorridas durante os ciclos pleistocênicos nos padrões genéticos e morfológicos dessas espécies. As áreas de chapadas e serras no leste do Brasil têm sido consideradas como refúgios para comunidades xerófilas durante os interglaciais, principalmente pelo elevado número de microendemismos e valores elevados de diversidade genética. A partir dessa elevada congruência entre os trabalhos concordamos que estas áreas devem ser consideradas como prioritárias para conservação da diversidade biológica.

A partir dos estudos de dinâmica populacional, observamos desempenho individual diferenciado entre as populações de *Melocactus* estudadas. Essa diferença foi observada pela primeira vez em espécies de cactos no Brasil, e também representa o primeiro estudo demográfico com espécies de cactos na América do Sul. O comportamento demográfico das populações estudadas é fortemente dependente da manutenção de adultos, que contrabalançam a elevada mortalidade nos estádios iniciais de desenvolvimento, determinada principalmente pela flutuação da qualidade do habitat ao longo da ontogenia. O extrativismo de indivíduos adultos para venda representa o principal impacto antrópico, e tem levado à extinção de inúmeras populações locais. As plantas adultas representam a fase mais importante do ciclo de vida dessas populações, e o comércio de cactos com base extrativista pautado na coleta direta

de indivíduos adultos representa um grande risco para essas populações. Os modelos globais (IPCC 2007) e regionalizados (Marengo et al. 2012) concordam com as tendências de aumento da irregularidade e redução das chuvas para a região leste do Brasil, o que representa um risco para a persistência dessas populações de *Melocactus*, devido aos eventos de mortalidade de adultos durante secas prolongadas. Neste sentido, ações de manejo sobre o extrativismo de adultos e preservação do habitat devem ser consideradas as estratégias mais efetivas para populações de *Melocactus*. Também apontamos a necessidade de uma linha investigativa mais ampla envolvendo estudos de dinâmica populacional associados a fatores de ameaça antrópicos e ambientais para as espécies ameaçadas de extinção (118 de 227 espécies, 78% endêmicas para o leste do Brasil; Zappi et al. 2010).

A partir deste trabalho mostramos que a abordagem espaço-temporal empregada contribuiu para entender as associações planta-planta em fina-escala e com gradientes climáticos. Apesar da maioria dos estudos sobre dinâmica das interações planta-planta em ambientes semi-áridos considerarem a facilitação por plantas (*nurse plants*) e disponibilidade hídrica como fatores chave (p.e., Flores & Jurado 2003), também apontamos a facilitação por estruturas do microrrelevo (fendas, cavidades; *nurse objects*) e a flutuação da qualidade do habitat ao longo da ontogenia, como fatores de grande importância na dinâmica destas populações de cactos. Devido à elevada especificidade do habitat de ocorrência dessas espécies de cactos, reforçamos a conservação do habitat como estratégia efetiva de manutenção das populações locais.

REFERÊNCIAS

- Ab'Sáber, A. (2003) Os domínios de natureza no Brasil: potencialidades paisagísticas.
- Alvarado-Cárdenas, L.O., Martínez-Meyer, E., Feria, T.P., Eguiarte, L.E., Hernández, H.M., Midgley, G., Olson, M.E. (2013) To converge or not to converge in environmental space: testing for similar environments between analogous succulent plants of North America and Africa. *Annals of Botany*, 111, 1125–1138.
- Angert, A.L. (2006) Demography of central and marginal populations of monkeyflowers (*Mimulus cardinalis* and *M. lewisii*). *Ecology*, 87, 2014–2025.
- Antonovics, J. (1976) The nature of limits to natural selection. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 63, 224–247.
- Arakaki, M., Christin, P.A., Nyffeler, R., Lendel, A., Eggli, U., Ogburn, R.M., Spriggs, E., Moore, M.J., Edwards, E.J. (2011) Contemporaneous and recent radiations of the world's major succulent plant lineages. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 108, 8379–8384.
- Arias, I., Lemus, L. (1984) Interaction of light, temperature and plant hormones in the germination of seeds of *Melocactus caesius* Went (Cactaceae). *Acta Científica Venezolana*, 35, 151–155.
- Armas C, Pugnaire FI (2005) Plant interactions govern population dynamics in a semiarid plant community. *Journal of Ecology*, 93, 978–989
- Arroyo-Cosultchi, G., Terrazas, T., Arias, S., López-Mata, L. (2010) Delimitación de *Neobuxbaumia mezcalaensis* y *N. multiareolata* (Cactaceae) con base en análisis multivariados. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 86, 53–64.
- Assis, J.G.A., Oliveira, A.L.P.C., Resende, S.V., Senra, J.F.V., Machado, M.C. (2003) Chromosome numbers in Brazilian *Melocactus* (Cactaceae). *Bradleya*, 21, 1–6.
- Avice, J.C. (2000) *Phylogeography: The history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts, USA.
- Baddeley A, Turner R (2000) Practical maximum pseudo-likelihood for spatial point patterns (with discussion). *Aust Nz J Stat* 42, 283–322
- Baddeley A, Turner R (2005) Spatstat: an R package for analyzing spatial point patterns. *J Stat Softw* 12, 1–42
- Baddeley A, Turner R (2006) Modelling spatial point patterns in R. In: Baddeley A, Gregori P, Mateu J, Stolica R, Stoyan D (eds.). *Case studies in spatial point process modelling*. pp. 23–74. Springer
- Baker, M.A., Johnson, R.A. (2000) Morphometric analysis of *Escobaria sneedii* var. *sneedii*, *E. sneedii* var. *leei*, and *E. guadalupensis* (Cactaceae). *Systematic Botany*, 25, 577–587.
- Bandelt, H.J., Forster, P., Röhl, A. (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16, 37–48.

- Barbará, T., Martinelli, G., Fay, M.F., Mayo, S.J., Lexer, C. (2007) Population differentiation and species cohesion in two closely related plants adapted to neotropical high-altitude inselbergs, *Alcantarea imperialis* and *A. geniculata* (Bromeliaceae). *Molecular Ecology*, 16, 1981–1992.
- Barbosa, A.R., Fiorini, C.F., Silva-Pereira, V., Mello-Silva, R., Borba, E.L. (2012) Geographical genetic structuring and phenotypic variation in the *Vellozia hirsuta* (Velloziaceae) ochlopecies complex. *American Journal of Botany*, 99, 1477–1488.
- Behling, H. (2003) Late glacial and Holocene vegetation, climate and fire history inferred from Lagoa Nova in the southeastern Brazilian lowland. *Vegetation History Archaeobotany*, 12, 263–270.
- Bennett, J.R., Wood, J.R.I., Scotland, R.W. (2008) Uncorrelated variation in widespread species: Species delimitation in *Strobilanthes echinata* Nees (Acanthaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 156, 131–141 .
- Bennett, K.D., Provan, J. (2008) What do we mean by ‘refugia’? *Quaternary Science Reviews*, 27, 2449–2455.
- Bertness M, Callaway RM (1994) Positive interactions in communities. *Trends Ecol Evol* 9, 191–193
- Blows, M.W., Hoffmann, A.A. (2005) A Reassessment of Genetic Limits to Evolutionary Change. *Ecology*, 86, 1371–1384.
- Bonatelli, I.A., Zappi, D.C., Taylor, N.P., Moraes, E.M. (2014). Interglacial microrefugia and diversification of a cactus species complex: phylogeography and palaeodistributional reconstructions for *Pilosocereus aurisetus* and allies. *Molecular Ecology*, 23, 3044–3063
- Bonnet, E., van de Peer, Y. (2002) zt: a software tool for simple and partial Mantel tests. *Journal of Statistical software*, 10, 1–12.
- Borba, E.L., Felix, J.M., Solferini, V.N., Semir, J. (2001). Flypollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species have high genetic variability: Evidence from isozyme markers. *American Journal of Botany*, 88, 419–428 .
- Borba, E.L., Shepherd, G.J., van den Berg, C., Semir, J. (2002) Floral and vegetative morphometrics of five *Pleurothallis* (Orchidaceae) species: correlation with taxonomy, phylogeny, genetic variability and pollination systems. *Annals of Botany*, 90, 219–230.
- Braconnot, P., Otto-Bliesner, B., Harrison, S., Joussaume, S., Peterchmitt, J.Y., Abe-Ouchi, A., Crucifix, M., Driesschaert, E., Fichet, T., Hewitt, C.D., Kageyama, M., Kitoh, A., Laine, A., Loutre, M.F., Marti, O., Merkel, U., Ramstein, G., Valdes, P., Weber, S.L., Yu, Y., Zhao, Y. (2007) Results of PMIP2 coupled simulations of the mid-Holocene and Last Glacial Maximum — Part 1: experiments and large-scale features. *Climate of the Past*, 3, 261–277.
- Caetano, S., Prado, D., Pennington, R.T., Beck, S., Oliveira-Filho, A.T., Spichiger, R. & Naciri, Y. (2008) The history of seasonally dry tropical forests in eastern south America:

- inferences from the genetic structure of the tree *Astronium urundeuva* (Anacardiaceae). *Molecular Ecology*, 17, 3147–3159.
- Caley, M.J., Cripps, E., Game, E.T. (2013) Phenotypic covariance at species' borders. Caley et al. *BMC Evolutionary Biology*, 13,105
- Callaway RM, Walker LR (1997) Competition and facilitation: a synthetic approach to interactions in plant communities. *Ecology* 78, 1958–1965
- Carstens, B.C., Richards, C.L. (2007) Integrating coalescent and ecological niche modeling in comparative phylogeography. *Evolution*, 61, 1439–1454.
- Caswell, H. (1996) Analysis of life table response experiments. II. Alternative parameterizations for size- and stage-structured models. *Ecological Modeling*, 88, 73-82.
- Caswell, H. (2001) Matrix population models: construction, analysis, and interpretation. Second edition. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Clapperton, C.M. (1993) Nature of environmental changes in South America at the Last Glacial Maximum. *Paleogeography, Paleoclimatology, Paleoecology*, 101, 189–208.
- Colaço, M.A.S., Fonseca, R.B., Machado, C.G. (2006) Biologia reprodutiva de *Melocactus glaucescens* (Buining & Brederoo) e *Melocactus paucispinus* G.Heimen & R.Paul (Cactaceae), no município de Morro do Chapéu, Bahia. *Acta Botanica Brasílica*, 29, 239–249.
- Collevatti, R.G., Castro, T.G., Lima, J.S., Telles, M.P.C. (2012) Phylogeography of *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo (Melastomataceae), an endangered tree species from rocky savannas, suggests bidirectional expansion due to climate cooling in the Pleistocene. *Ecology and Evolution*, 2, 1024–1035.
- Collevatti, R.G., Rabelo, S.G., Vieira, R.F. (2009) Phylogeography and disjunct distribution in *Lychnophora ericoides* (Asteraceae), an endangered cerrado shrub species. *Annals of Botany*, 104, 655–664.
- Conceição, A.A., Pirani, J.R., Meirelles, S.T. (2007) Floristics, structure and soil of insular vegetation in four quartzite-sandstone outcrops of “Chapada Diamantina”, Northeast Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, 30, 641–656.
- Contreras, C., Valverde, T. (2002) Evaluation of the conservation status of a rare cactus (*Mammillaria crucigera*) through the analysis of its population dynamics. *Journal of Arid Environment*, 1, 89–102.
- Cosacov, A., Johnson, L.A., Paiaro, V., Cocucci, A.A., Córdoba, F.E., Sérsic, A.N. (2013) Precipitation rather than temperature influenced the phylogeography of the endemic shrub *Anarthrophyllum desideratum* in the Patagonian steppe. *Journal of Biogeography*, 40, 168–182.
- Cota-Sánchez, J.H., Remarchuk, K., Ubayasena, K. (2006). Ready-to-use DNA extracted with a CTAB method adapted for herbarium specimens and mucilaginous plant tissue. *Plant Molecular Biology Reporter*, 24, 161–167.

- Crawley, M.J. (2013) *The R Book*. Second edition. Wiley
- Crone, E.E., Menges, E.S., Ellis, M.M., Bell, T., Bierzychudek, P., Ehrlén, J., Kaye, T.N., Knight, T.M., Lesica, P., Morris, W.F., Oostermeijer, G., Quintana-Ascencio, P.F., Stanley, A., Ticktin, T., Valverde, T., Williams, J.L. (2011) How do plant ecologists use matrix population models? *Ecology Letters*, 14, 1–8.
- Cushman, S.A., Landguth, E.L. (2010) Spurious correlations and inference in landscape genetics. *Molecular Ecology*, 19, 3592–3602.
- Davis, M.B., Shaw, R.G. (2001) Range shifts and adaptive responses to quaternary climate change. *Science*, 292, 673–679.
- de Kroon, H., Plaisier, A., van Groenendael, J., Caswell, H. (1986) Elasticity: the relative contribution of demographic parameters to population growth rate. *Ecology*, 67, 1427–1431.
- de la Cruz M, Romão RL, Escudero A, Maestre FT (2008) Where do seedlings go? A spatio-temporal analysis of seedling mortality in a semi-arid gypsophyte. *Ecography* 31, 1–11
- De la Cruz, M., Ramírez, F., Hernández, H. (1997) DNA isolation and amplification from cacti. *Plant Molecular Biology Reporter*, 15, 319–325.
- de Queiroz, K. (2007) Species Concepts and Species Delimitation. *Systematic Biology*, 56, 879–886.
- Delgado-Baquerizo, M., et al. (2013) Decoupling of soil nutrient cycles as a function of aridity in global drylands. *Nature*, 502, 672–676.
- DeSoto L, Olano JM, Rozas V, de la Cruz M (2010) Release of *Juniperus thurifera* woodlands from herbivore-mediated arrested succession in Spain. *Appl Veg Sci* 13, 15–25
- Dixon PM (2002) Nearest-neighbor contingency table analysis of spatial segregation for several species. *Ecoscience* 9, 142–151
- Drezner, T.D. (2003) Saguaro (*Carnegiea gigantea*, Cactaceae) age–height relationships and growth: the development of a general growth curve. *American Journal of Botany*, 90, 911–914.
- Drezner, T.D., Lazarus, B.L. (2008) The Population Dynamics of Columnar and Other Cacti: A Review. *Geography Compass*, 2, 1–29.
- Dubrovsky, J.G. (1996) Seed hydration memory in Sonoran Desert cacti and its ecological implication. *American Journal of Botany*, 83, 624–632.
- Edgar, R.C. (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32, 1792–1797.
- Eggl, U., Nyffeler, R. (2009) Living under temporarily arid conditions - succulence as an adaptive strategy. *Bradley*, 27, 13–36.
- Ellner S, Shmida A (1981) Why are adaptations for long-range seed dispersal rare in desert plants? *Oecologia* 51, 133–114

- Esparza-Olguín L, Valverde T, Mandujano MC (2005) Comparative demographic analysis of three *Neobuxbaumia* species (Cactaceae) with differing degree of rarity. *Pop Ecol* 47:229–245
- Esparza-Olguin, L., Valverde, T., Vilehis-Anaya, E. (2002) Demographic analysis of a rare columnar cactus (*Neobuxbaumia macrocephala*) in the Tehuacan Valley, Mexico. *Biological Conservation*, 103, 349–359.
- Excoffier, L. (2004) Patterns of DNA sequence diversity and genetic structure after a range expansion, lessons from the infinite-island model. *Molecular Ecology*, 13, 853–864.
- Excoffier, L., Lischer, H.E.L. (2010) Arlequin suite ver. 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10, 564–567.
- Ferrer-Cervantes, M.E., Méndez-González, M.E., Quintana-Ascencio, P.F., Dorantes, A., Dzib, G. & Durán, R. (2012) Population dynamics of the cactus *Mammillaria gaumeri*: an integral projection model approach. *Population Ecology*, 54, 321–334.
- Figueira, J.E.C., Vasconcellos-Neto, J., Garcia, M.A, Souza, A.L.T. (1994) Saurocory in *Melocactus violaceus* (Cactaceae). *Biotropica* 26, 295-301.
- Flores, J., Jurado, E. (2003) Are nurse-protégé interactions more common among plants from arid environments? *J Veg Sci* 14, 911–916
- Flores-Martínez, A., Medina, G.I.M., Golubov, J., Montañá, C., Mandujano, M.C. (2010) Demography of an endangered endemic rupicolous cactus. *Plant Ecology*, 210, 53–66.
- Fonseca, R.B.S., Funch, L.S., Borba, E.L. (2012) Dispersão de sementes de *Melocactus glaucescens* e *M. paucispinus* (Cactaceae), no Município de Morro do Chapéu, Chapada Diamantina – BA. *Acta Botânica Brasílica* 26, 481–492.
- Forster, P., Bandelt, H.J., Röhl, A. (2004). Network 4.2.0.1. Software freely available at: www.fluxus-engineering.com. Fluxus Technology Ltd.
- Franco, A.C., Nobel, P.S. (1989) Effect of nurse plants on the microhabitat and growth of cacti. *Journal of Ecology*, 77, 870 – 886.
- Fregonezi, J.N., Turchetto, C., Bonato, L., Freitas, L.B. (2013) Biogeographical history and diversification of *Petunia* and *Calibrachoa* (Solanaceae) in the Neotropical Pampas grassland. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 171, 140–153.
- Friendly M (1994) Mosaic displays for multiway contingency tables. *J. Amer. Statist. Assoc* 89, 190–200
- García, D., R. Zamora. (2003) Persistence and múltiple demographic strategies in long-lived mediterranean plants. *Journal of Vegetation Science*, 14, 921–926.
- Gaston, K.J. (2009) Geographic range limits: achieving synthesis. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 276,1395–406.

- Giménez-Benavides, L., Albert, M.J., Iriondo, J.M., Escudero, A. (2011) Demographic processes of upward range contraction in a long-lived Mediterranean high mountain plant. *Ecography*, 34, 85–93.
- Giménez-Benavides, L., Iriondo, J.M., Escudero, A. (2007) Reproductive limits of a lateflowering high-mountain Mediterranean plant along an elevational climate gradient. *New Phytologist* 173,367–382.
- Godínez-Álvarez, H.T., Valverde, T., Ortega-Baes, P. (2003) Demographic trends in the Cactaceae. *The Botanical Review*, 69, 173–203.
- Goldman, D.H., van den Berg, C., Griffith, M.P. (2004) Morphometric circumscription of species and infraspecific taxa in *Calopogon* R.Br. (Orchidaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 274, 37–60.
- Gomes VG, Quirino ZG, Machado IC (2013) Pollination and seed dispersal of *Melocactus ernestii* Vaupel subsp. *ernestii* (Cactaceae) by lizards: an example of double mutualism. *Plant Biology*, 16, 315–22
- Gomes, P., Alves, M. (2009) Floristic and vegetational aspects of an inselberg in the semi-arid region of Northeast Brazil. *Edinburgh Journal of Botany*, 66, 1–18.
- Goreaud F, Pelissier R (2003) Avoiding misinterpretation of biotic interactions with the intertype K_{12} -function: population independence vs. random labelling hypotheses. *J Veg Sci* 14, 681–692
- Gotelli NJ, Ellison AM (2004) A primer of ecological statistics. Sinauer
- Gotelli, N.J. (1991) Demographic models for *Leptogorgia virgulata*, a shallow-water gorgonian. *Ecology*, 72, 457–467.
- Graham, C.H., Ron, S.R., Santos, J.C., Schneider, C.J. & Moritz, C. (2004) Integrating phylogenetics and environmental niche models to explore speciation mechanisms in dendrobatid frogs. *Evolution*, 58, 1781–93.
- Griffith D.A., Peres-Neto, P.R. (2006) Spatial modeling in ecology: the flexibility of eigenfunction spatial analyses. *Ecology*, 87, 2603–2613.
- Grime, J. P. (2001) Plant strategies, vegetation processes, and ecosystem properties. Wiley.
- Guarnizo, C.E., Cannatella, D.C. (2014) Geographic determinants of gene flow in two sister species of tropical andean frogs. *Journal of Heredity*, 105, 216–225.
- Guillot, G., Rousset, F. (2013) Dismantling the Mantel tests. *Methods in Ecology and Evolution*, 4, 336–344.
- Guisan, A., Zimmermann, N.E. (2000) Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological Modelling*, 135, 147–186.
- Haase P (1995) Spatial pattern analysis in ecology based on Ripley's K-function: introduction and methods of edge correction. *J Veg Sci* 6, 527–534

- Hall, J.P. (2005) Montane speciation patterns in *Ithomiola* butterflies (Lepidoptera: Rhiodinidae): are they consistently moving up in the world? *Proceedings of Royal Society B*, 272, 2457–2466.
- Hampe, A., Jump, A.S. (2011) Climate relicts: past, present, future. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 42, 313–333.
- Hawkins, B.A. (2012) Eight (and a half) deadly sins of spatial analysis. *Journal of Biogeography*, 39, 1–9.
- Helsen, P., Browne, R.A., Anderson, D.J., Verdyck, P., van Dongen, S. (2009) Galápagos' *Opuntia* (prickly pear) cacti: extensive morphological diversity, low genetic variability. *Biological Journal of the Linnean Society*, 96, 451–461.
- Hewitt, G.M. (2004) Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 359, 183–195.
- Hickerson, M.J., Carstens, B.C., Cavender-Bares, J., Crandall, K.A., Graham, C.H., Johnson, J.B., Rissler, L., Victoriano, P.F., Yoder, A.D. (2010) Phylogeography's past, present, and future: 10 years after *Avise*. *Molecular Phylogenetic and Evolution*, 54, 291–301.
- Hijmans, R.J., Cameron, S., Parra, J., Jones, P. a Jarvis, A. (2005) Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 25, 1965–1978.
- Holmes, E., Semmens, B.X. (2004) Viability analysis for endangered metapopulations: a diffusion approximation approach. In: Hanski, I., Gaggiotti, O. (eds.). *Ecology, Genetics and Evolution of Metapopulations*. Academic Press.
- Houle G, Phillips DL (1989) Seed availability and biotic interactions in granite outcrop plant communities. *Ecology* 70, 1307–1316
- Huang, X., Madan, A. (1999) CAP3: A DNA sequence assembly program. *Genome Research*, 9, 868–877.
- Hughes, C., Eastwood, R. (2006) Island radiation on a continental scale: Exceptional rates of plant diversification after uplift of the Andes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 103, 10334–10339.
- Hughes, F.M. (2009). *Ecologia reprodutiva e morfometria de Melocactus ernestii* (Vaupel) no município de Nova Itarana. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.
- Hughes, F.M., De La Cruz Rot, M., Romão, R.L., Castro, M.S. (2011) Dinâmica espaço-temporal de *Melocactus ernestii* subsp. *ernestii* (Cactaceae) no Nordeste do Brasil. *Brazilian Journal of Botany*, 34, 389–402.
- Hunt, D.R., N.P. Taylor, Charles, G. (2006) *The New Cactus Lexicon*. Milborne Port.
- Hutchinson, G.E. (1957) Concluding remarks. *Cold Spring Harbour Symposium on Quantitative Biology*, 22, 415–427.

- IPCC. (2007) Climate Change 2001: Impacts, Adaptation and Vulnerability. International Panel of Climate Change, Geneva, Switzerland.
- IUCN – Red list of threatened Species. (on line) Available on the internet via the URL: <http://www.bdt.org.br/redflora/>, consulted on June 10. 2013.
- Ives, A.R., Klopfer, E. (1997) Spatial variation in abundance created by stochastic temporal environmental variation. *Ecology*, 78, 1907–1913
- Jackson, S.T., Overpeck, J.T. (2000) Responses of plant populations and communities to environmental changes of the late Quaternary. *Paleobiology*, 26, 194–220.
- Janzen, D.H. (1967) Why mountain passes are higher in the tropics. *American Naturalist*, 101, 233–249.
- Jiménez-Valverde, A. (2012) Insights into the area under the receiver operating characteristic curve (AUC) as a discrimination measure in species distribution modeling. *Global Ecology and Biogeography*, 21, 498–507.
- Jump, A.S., Woodward, F.I. (2003) Seed production and population density decline approaching the range-edge of *Cirsium* species. *New Phytologist*, 160, 349–358.
- Jurado, E., Flores, J. (2005) Is seed dormancy under environmental control or bound to plant traits? *Journal of Vegetation Science*, 16, 559–564.
- Kaplan, E.L., Meier, P. (1958) Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American Statistical Association*, 53, 457–481.
- Kidd, D.M., Ritchie, M.G. (2006) Phylogeographic Information Systems; putting the geography into phylogeography. *Journal of Biogeography*, 33, 1851–1865.
- Kirkpatrick, M. & Barton, N. H. (1997). Evolution of a species range. *American Naturalist*, 150, 1–23.
- Kleinbaum, D.G., Klein, M. (2005) Survival analysis. A self-learning approach. Second edition. New York: Springer.
- Kolb, A. (2005) Reduced reproductive success and offspring survival in fragmented populations of the forest herb *Phyteuma spicatum*. *Journal of Ecology*, 93, 1226–1237.
- Kozak, K.H., Wiens J.J. (2010) Accelerated rates of climatic niche evolution underlie rapid species diversification. *Ecology Letters*, 13, 1378–1389.
- Lahoz-Monfort, J.J., Guillera-Aroita, G., Wintle, B.A. (2014) Imperfect detection impacts the performance of species distribution models. *Global Ecology and Biogeography*, 23, 504–515.
- Lambert, S.M., Borba, E.L., Machado, M.C. & Andrade, S.C.S. (2006a) Allozyme diversity and morphometrics of *Melocactus paucispinus* (Cactaceae) and evidence for hybridization with *M. concinnus* in the Chapada Diamantina, North-eastern Brazil. *Annals of Botany*, 97, 389–403.
- Lambert, S.M., Borba, E.L. & Machado M.C. (2006b) Allozyme diversity and morphometrics of the endangered *Melocactus glaucescens* (Cactaceae), and investigation

- of the putative hybrid origin of *Melocactus* × *albicephalus* (*Melocactus ernestii* × *M. glaucescens*) in north-eastern Brazil. *Plant Species Biology*, 21, 93–108.
- Larrea-Alcázar DM, Murillo JJ, Figueredo CJ, Soriano PJ (2008) Spatial associations between two globose cacti and two dominant mimosoid bushes in a tropical semiarid enclave. *Ecotrópicos* 21, 97–105
- Leaché, A.D., Kooa, M.S., Spencera, C.L. , Papenfuss, T.J. , Fisherb, R.N. & McGuire, G.A. (2009) Quantifying ecological, morphological, and genetic variation to delimit species in the coast horned lizard species complex (*Phrynosoma*). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106, 12418–12423.
- Lefkovich, L.P. (1965) The study of population growth in organisms grouped by stages. *Biometrics*, 21, 1–18.
- Legendre P., Trousselier M. (1988) Aquatic heterotrophic bacteria: modeling in the presence of spatial autocorrelation. *Limnology and Oceanography*, 33, 1055–1067.
- Legendre, P., Legendre, L. (2012) *Numerical ecology*. Elsevier, Oxford, UK.
- Lesica, P., Allendorf, F. W. (1995) When are peripheral populations valuable for conservation? *Conservation Biology*, 9, 753–760.
- Liancourt P, Callaway RM, Michalet R (2005) Stress tolerance and competitive-response ability determine the outcome of biotic interactions. *Ecology* 86, 1611–1618
- Longo, D., Lorens-Lemke, A.P., Mäder, G., Bonatto, S.L., Freitas, L.B. (2014) Phylogeography of the *Petunia integrifolia* complex in southern Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 174, 199–213.
- López RP, Valdivia S (2007) The importance of shrub cover for four cactus species differing in growth form in an Andean semi-desert. *J Veg Sci* 18, 263–270
- Losos, J.B., Ricklefs, R.E. (2009) Adaptation and diversification on islands. *Nature*, 457, 830–836
- Lüttge, U. (2004) Ecophysiology of Crassulacean Acid Metabolism (CAM). *Annals of Botany*, 93, 629–652.
- Machado M C. 2008. What is the role of hybridization in the evolution of the Cactaceae? *Bradleya*, 26, 1–18.
- Machado, M.C. (2005) O gênero *Discocactus* Pfeiff. (Cactaceae) no estado da Bahia, Brasil: variabilidade morfológica, variabilidade genética, taxonomia e conservação. Dissertação de mestrado, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana.
- Machado, M.C.; Zappi, D.C.; Taylor, N.; Borba, E.L. (2005) Taxonomy and conservation of the *Discocactus* Pfeiff. (Cactaceae) species occurring in the state of Bahia, Brazil. *Bradleya*, 23, 41–56.
- Maestre FT, Callaway RM, Valladares F, Lortie CJ (2009) Refining the stress-gradient hypothesis for competition and facilitation in plant communities. *J Ecol* 97, 199–205

- Maestre, F.T. et al. (2012) Plant species richness and ecosystem multifunctionality in global drylands. *Science*, 335, 214–218.
- Majure, L.C., Judd, W.S., Soltis, P.S. & Soltis, D.E. (2012) Cytogeography of the *Humifusa* clade of *Opuntia* s.s. Mill. 1754 Cactaceae, Opuntioideae, Opuntieae): correlations with pleistocene refugia and morphological traits in a polyploidy complex. *Comparative Cytogenetics*, 6, 53–77.
- Marengo, J.A., Chou, S.C., Kay, G., Alves, L.M., Pesquero, J.F., Soares, W.R., Santos, D.C., Lyra, A.A., Sueiro, G., Betts, R., Chagas, D.J., Gomes, J.L., Bustamante, J.F., Tavares, P. (2012) Development of regional future climate change scenarios in South America using the Eta CPTEC/HadCM3 climate change projections: climatology and regional analyses for the Amazon, São Francisco and the Paraná River basins. *Climate Dynamics*, 38, 1829–1848.
- Martínez, A.F., Manzanero, G.I., Golubov, M.J., Montaña, C., Mandujano, C.M. (2010) Demography of an endangered endemic rupicolous cactus. *Plant Ecology*, 210, 53–66.
- Martorell, C., Patiño, P. (2006) Globose cacti (*Mammillaria*) living on cliffs avoid high temperatures in a hot dryland of Southern Mexico. *J Arid Environ* 67, 541–552
- Martorell, C., Garcillán, P.P., Casillas, F. (2012) Ruderality in extreme-desert cacti? Population effects of chronic anthropogenic disturbance on *Echinocereus lindsayi*. *Population Ecology*, 54, 335-346.
- Mauseth, J.D. (2000) Theoretical aspects of surface-to-volume ratios and water storage capacities of succulent shoots. *American Journal of Botany*, 87, 1107–1115.
- Mauseth, J.D. (2006) Structure–function relationships in highly modified shoots of Cactaceae. *Annals of Botany*, 98, 901–926.
- McCormack, J.E., Zellmer, A.M. & Knowles, L.L. (2010) Does niche divergence accompany allopatric divergence in *Aphelocoma* Jays as predicted under ecological speciation?: insights from tests with Niche models. *Evolution*, 64, 1231–1244.
- McIntosh, M.E., Boyd, A.E., Jenkins, P.D., Mcdade, L.A. (2011) Growth and mortality in the endangered Nichol’s turk’s head cactus *Echinocactus horizonthalonius* var. *nicholii* (Cactaceae) in southeastern Arizona, 1995-2008. *The Southwestern Naturalist*, 56, 333-340.
- McIntyre, P.J. (2012) Polyploidy associated with altered and broader ecological niches in the *Claytonia perfoliata* (Portulacaceae) species complex. *American Journal of Botany*, 99, 655–662.
- Medina BMO, Ribeiro KT, Scarano FR (2006) Plant-plant and plant-topography interactions on a rock outcrop at high altitude in southeastern Brazil. *Biotropica* 38, 27–34
- Menezes, M.O.T., Taylor, N.P., Machado, M.C., Correia D. & Coelho, P.J.A. (2011) Diversity and distribution of Cactaceae in Ceará state, North-eastern Brazil. *Bradleya*, 29, 13–42.

- Michalet R (2006) Is facilitation in arid environments the result of direct or complex interactions? *New Phytol* 169, 1–2
- Michalet R, Le Bagousse-Pinguet Y, Maalouf J, Lortie CJ (2014) Two alternatives to the stress-gradient hypothesis at the edge of life: the collapse of facilitation and the switch from facilitation to competition. *J Veg Sci* 25, 609–613
- Muhamed H, Touzard B, Le Bagousse-Pinguet Y, Michalet R (2013) The role of biotic interactions for the early establishment of oak seedlings in coastal dune forest communities. *For Ecol Manage* 297, 67–74
- Munguía-Rosas, M.A., Sosa, V.J. (2008) Nurse plants vs. nurse objects: effects of woody plants and rocky cavities on the recruitment of the *Pilosocereus leucocephalus* columnar cactus. *Annals of Botany*, 101,175–185.
- Muñoz–Urias, A., Palomino–Hasbach, G., Terrazas, T., García–Velázquez, A., Pimienta–Barrios, E. (2008) Variación anatómica y morfológica en especies y entre poblaciones de *Opuntia* en la porción sur del Desierto Chihuahuense. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*, 83, 1–11.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B., Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853–845.
- Nakazato, T., Bogonovich, M., Moyle, L.C. (2008) Environmental factors predict adaptive phenotypic differentiation within and between two wild Andean tomatoes. *Evolution*, 62, 774–792.
- Nakazato, T., Warren, D.L. & Moyle, L.C. (2010) Ecological and geographic modes of species divergence in wild tomatoes. *American Journal of Botany*, 97, 680–693.
- Nassar, J.M., Ramírez, N. (2004) Reproductive biology of the melon cactus, *Melocactus curvispinus* (Cactaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 248, 31–44.
- Nattero, J., Sérsic, A.N., Cocucci, A.A. (2011). Geographic variation of floral traits in *Nicotiana glauca*: Relationships with biotic and abiotic factors. *Acta Oecologica*, 37, 503–511.
- Nei, M. (1987) *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University Press, New York.
- Ortiz-Jaureguizar, E. & Cladera, G. (2006) Paleoenvironmental evolution of southern South America during the Cenozoic. *Journal of Arid Environments*, 66, 498–532.
- Otto, S.P. & Whitton, J. (2000) Polyploid incidence and evolution. *Annual Review of Genetics*, 34, 401–437.
- Otto-Bliesner, B.L., Brady, E.C., Clauzet, G. et al. (2006) Last Glacial Maximum and Holocene climate in CCSM3. *Journal of Climate*, 19, 2526–2544.
- Padial, J.M., Miralles, A., De la Riva, I., Vences, M. (2010) The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology* 2010, 7, 16

- Paíaro, V., Oliva, G.E., Cocucci, A.A., Sérsic, A.N. (2012). Geographic patterns and environmental drivers of flower and leaf variation in an endemic legume of Southern Patagonia. *Plant Ecology & Diversity*, 1, 1–13.
- Palma-Silva, C., Wendt, T., Pinheiro, F., Barbará, T., Fay, M.F., Cozzolino, S., Lexer, C. (2011) Sympatric bromeliad species (*Pitcairnia* spp.) facilitate tests of mechanisms involved in species cohesion and reproductive isolation in Neotropical inselbergs. *Molecular Ecology*, 20, 3185–3201.
- PAN (2010) Plano de ação nacional para a conservação das cactáceas. Série Espécies Ameaçadas nº 24. Org.: S.R. Silva. – Brasília: Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade.
- Pearson, R.G., Raxworthy, C.J., Nakamura, M. & Peterson, A.T. (2007) Predicting species distributions from small numbers of occurrence records: a test case using cryptic geckos in Madagascar. *Journal of Biogeography*, 34, 102–117.
- Pennington, R.T., Lavin, M., Oliveira-Filho, A. (2009) Woody plant diversity, evolution, and ecology in the tropics: Perspectives from Seasonally Dry Tropical Forests. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, 437–457.
- Pennington, R.T., Prado, D.E. & Pendry, C.A. (2000) Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. *Journal of Biogeography*, 27, 261–273.
- Peters EM, Martorell C, Ezcurra E (2008) Nurse rocks are more important than nurse plants in determining the distribution and establishment of globose cacti (*Mammillaria*) in the Tehuacán Valley, Mexico. *J Arid Environ* 72, 593–601
- Peterson, A.T. (2011) Ecological niche conservatism: a time-structured review of evidence. *Journal of Biogeography*, 38, 817–827.
- Phillips, S.J. & Dudík, M. (2008) Modeling of species distributions with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation. *Ecography*, 31, 161–175.
- Pinheiro, F., Cozzolino, S., Draper, D., Barros, F., Félix, L.P., Fay, M.F., Palma-Silva, C. (2014). Rock outcrop orchids reveal the genetic connectivity and diversity of inselbergs of northeastern Brazil. *BMC Evolutionary Biology*, 14, 49.
- Porembski, S. (2007) Tropical inselbergs: habitats types, adaptive strategies and diversity patterns. *Revista Brasileira de Botânica*, 30, 579–586.
- Porembski S, Barthlott W. (2000) Granitic and gneissic outcrop (inselbergs) as centers of diversity for desiccation-tolerant vascular plants. *Plant Ecology*, 151, 19–28.
- Porembski, S., Martinelli, G., Ohlemüller, R., Barthlott, W. (1998) Diversity and ecology of saxicolous vegetation mats on inselbergs in the Brazilian Atlantic rainforest. *Diversity and Distribution*, 4, 107–119.
- Portilla-Alonso, C.M., Martorell, C. (2011) Demographic consequences of chronic anthropogenic disturbance on three populations of the endangered globose cactus *Coryphantha werdermannii*. *Journal of Arid Environments* 75, 509–515.

- Pröhl, H., Ron, S.R., Ryan, M.J. (2010). Ecological and genetic divergence between two lineages of Middle American túngara frogs *Physalaemus (=Engystomops) pustulosus*. *BMC Evolutionary Biology*, 10, 146.
- Pugnaire FI, Armas C, Maestre FT (2011) Positive plant interactions in the Iberian Southeast: Mechanisms, environmental gradients, and ecosystem function. *J Arid Environ* 75, 1310–1320
- Pulliam, H.R. (2000). On the relationship between niche and distribution. *Ecology Letters*, 3, 349–361.
- Queiroz, L.P. (2006). The Brazilian Caatinga: phytogeographical patterns inferred from distribution data of the Leguminosae. In: R.T.Pennington; G.P.Lewis; J.A.Ratter. (Org.). *Neotropical Savannas and Dry Forests: Diversity, Biogeography, and Conservation*. Boca Raton, FL: Taylor & Francis, CRC Press.
- R Development Core Team. (2014) R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.
- Rangel, T.H., Diniz-Filho J.A.F., Bini L.M. (2010) SAM: a comprehensive application for spatial analysis in macroecology. *Ecography*, 33, 46–50.
- Raxworthy, C.J., Ingram, C.M., Rabibisoa, N., Pearson, R.G. (2007). Applications of ecological niche modeling for species delimitation: a review and empirical evaluation using day geckos (*Phelsuma*) from Madagascar. *Systematic biology*, 56, 907–923.
- Raxworthy, C.J., Martinez-Meyer, E., Horning, N., Nussbaum, R.A., Schneider, G.E., Ortega-Huerta, M.A. & Peterson, T.A. (2003) Predicting distributions of known and unknown reptile species in Madagascar. *Nature*, 426, 837–841.
- Reyes-Olivas A, García-Moya E, López-Mata L (2002) Cacti-shrub interactions in the coastal desert of northern Sinaloa, Mexico. *J Arid Environ* 52, 431–445
- Ripley BD (1977) Modelling spatial patterns. *J R Stat Soc Series B Stat Methodol* 39, 172–212
- Rissler, L.J. & Apodaca, J.J. (2007) Adding more ecology into species delimitation: Ecological niche models and phylogeography help define cryptic species in the black salamander (*Aneides flavipunctatus*). *Systematic Biology*, 56, 924–42.
- Ritz, C. M., Martins, L., Mecklenburg, R., Goremykin, V., Hellwig, F.H. (2007) The molecular phylogeny of *Rebutia* (Cactaceae) and its allies demonstrates the influence of paleogeography on the evolution of South American mountain cacti. *American Journal of Botany*, 94,1321-1332.
- Rojas-Aréchiga, M., Vásquez-Yanes, C. (2000) Cactus seed germination: a review. *Journal of Arid Environments*, 44, 85–104.
- Rojas-Sandoval, J., Meléndez-Ackerman, E. (2012) Effects of an invasive grass on the demography of the Caribbean cactus *Harrisia portoricensis*: Implications for cacti conservation. *Acta Oecologica*, 41, 30–38.

- Russel, A., Samuel, R., Rupp, B., Barfuss, M.H.J., Safran, M., Besendorfer, V., Chase, M.W. (2010) Phylogenetics and cytology of a pantropical orchid genus *Polystachya* (Polystachyinae, Vandeeae, Orchidaceae): Evidence from plastid DNA sequence data. *Taxon*, 59, 389–404.
- Salguero-Gómez, R., de Kroon, H. (2010) Matrix projection models meet variation in the real world. *Journal of Ecology*, 98, 250–254.
- Santamaría L, Rodríguez-Pérez J, Larrinaga AR, Pias B (2007) Predicting spatial patterns of plant recruitment using animal-displacement kernels. *PLoS ONE* 2, e1008. doi:10.1371/journal.pone.0001008
- Schluter, D. (2009) Evidence for ecological speciation and its alternative. *Science*, 323, 737–741.
- Schmalzel, R.J., Nixon, R.T., Best, A.L., Tress, J.A. (2004) Morphometric variation in *Coryphantha robustispina* (Cactaceae). *Systematic Botany*, 29, 553–568.
- Schneider, S., Excoffier, L. (1999) Estimation of past demographic parameters from the distribution of pairwise differences when the mutation rates vary among sites: Application to Human Mitochondrial DNA. *Genetics*, 152, 1079–1089.
- Schoener, T. W. (1968) *Anolis* lizards of Bimini: resource partitioning in a complex fauna. *Ecology*, 49, 704–726.
- Sérsic, A.N., Cosacov, A., Cocucci, A.A., Johnson, L.A., Pozner, R., Avila, L.J., Sites, J.W., Jr & Morando, M. (2011) Emerging phylogeographical patterns of plants and terrestrial vertebrates from Patagonia. *Biological Journal of the Linnean Society*, 103, 475–494.
- Sexton, J.P., Hangartner, S.B., Hoffmann, A.A. (2014) Genetic isolation by environment or distance: which pattern of gene flow is most common? *Evolution*, 68, 1–15.
- Sexton, J.P., McIntyre, P.J., Angert, A.L., Rice, K.J. (2009) Evolution and ecology of species range limits. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40, 415–36.
- Shaw, J., Lickey, E.D., Schilling, E.E., Small, R.L. (2007) Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: The tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*, 94, 275–288.
- Shumway RH, Stoffer DS (2011) *Time Series Analysis and Its Applications: With R Examples* (3rd ed). Springer Texts in Statistics
- Soberón, J.M. (2010) Niche and area of distribution modeling: a population ecology perspective. *Ecography*, 33, 159–167.
- Speziale, K.L., Ezcurra, C. (2012) The role of outcrops in the diversity of Patagonian vegetation: relicts of glacial palaeofloras? *Flora*, 207, 141–149.
- StatSoft INC (2003) *STATISTICA* (data analysis software system), version 6. StatSoft Inc, Tulsa

- Stewart, J.R., Lister, A.M., Barnes, I., Dalén, L. (2010) Refugia revisited: individualistic responses of species in space and time. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 277, 661–671.
- Swofford, D.L. (2002) PAUP*: Phylogenetic analysis using parsimony and other methods. Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- Taylor NP. (1991) The genus *Melocactus* (Cactaceae) in Central and South America. *Bradleya*, 9, 1–80.
- Taylor, N.P. & Zappi, D.C. (2004) *Cacti of Eastern Brazil*. Royal Botanical Gardens, Kew.
- Togawa, R.C., Brigido, M.M. (2003) PHPH: Web based tool for simple electropherogram quality analysis. 1st International conference on Bioinformatics and Computational Biology IcoBiCoBi. Ribeirão Preto - Brazil.
- Tripathi, A.K., Roberts, C.D., Eagle, R.A. (2009) Coupling of CO₂ and ice sheet stability over major climate transitions of the last 20 million years. *Science*, 326, 1394–1397.
- Turchetto-Zolet, A.C., Pinheiro, F., Salgueiro, F., Palma-Silva, C. (2013) Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. *Molecular Ecology*, 22, 1193–1213.
- Ureta, C., Martorell, C. (2009) Identifying the impacts of chronic anthropogenic disturbance on two threatened cacti to provide guidelines for population-dynamics restoration. *Biological Conservation*, 142, 1992–2001.
- Valverde, T., Quijas, S., López-Villavicencio, M., Castillo, S. (2004) Population dynamics of *Mammillaria magnimamma* Haworth (Cactaceae) in a lava-field in central Mexico. *Plant Ecology*, 170, 167–184.
- van Groenendael, J., de Kroon, H., Caswell, H. (1988) Projection matrices in population biology. *Trends in Ecology & Evolution*, 3, 264–269.
- Velloso, A.L., Sampaio, E.V.S.B. & Pareyn, F.G.C. (2002) *Ecorregiões propostas para o Bioma Caatinga*. Associação Plantas do Nordeste - Instituto de Conservação Ambiental - The Nature Conservancy do Brasil, Recife.
- Waagepetersen RP (2007) An estimating function approach to inference for inhomogeneous Neyman-Scott processes. *Biometrics* 63, 252–258
- Waltari, E., Perkins, S., Hijmans, R. Peterson, A.T., Nyári, A.S., Perkins, S.L., Guralnick, R.P. (2007) Locating Pleistocene refugia: comparing phylogeographic and ecological niche model predictions. *PLoS ONE*, 2, e563.
- Warren, D.L., Glor, R.E. & Turelli, M. (2010) ENMTools: a toolbox for comparative studies of environmental niche models. *Ecography*, 33, 607–611.
- Warren, D.L., Glor, R.E. & Turelli, M. (2008) Environmental niche equivalency versus conservatism: quantitative approaches to niche evolution. *Evolution*, 62, 2868–2883.
- Weir, B.S., Cockerham, C.C. (1984) Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38, 1358–1370.

- Werneck, F.P., Costa, G.C., Colli, G.R., Prado, D., Sites Jr. & J.W. (2011) Revisiting the historical distribution of Seasonally Dry Tropical Forests: new insights based on palaeodistribution modelling and palynological evidence. *Global Ecology and Biogeography*, 20, 272–288.
- Werneck, F.P., Gamble, T., Colli, G.R., Rodrigues, M.T., Sites, J.W. Jr. (2012) Deep diversification and long-term persistence in the South American ‘Dry Diagonal’: integrating continent-wide phylogeography and distribution modeling of geckos. *Evolution*, 66, 3014–3034.
- Wiegand T, Gunatilleke S, Gunatilleke N (2007) Species associations in a heterogeneous Sri Lankan Dipterocarp forest. *Am. Nat.* 170, 77–95
- Wiens, J.J., Ackerly, D.D., Allen, A.P., Anacker, B.L., Buckley, L.B., Cornell, H.V., Damschen, E.I., Davies, T.J., Grytnes, J.A., Harrison, S.P., Hawkins, B.A., Holt, R.D., McCain, C.M. & Stephens, P.R. (2010) Niche conservatism as an emerging principle in ecology and conservation biology. *Ecology Letters*, 13, 1310–1324.
- Wiens, J.J., Graham, C.H. (2005) Niche conservatism: integrating evolution, ecology, and conservation biology. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36, 519–539.
- Wiens, J.J., M. J. Donoghue. (2004) Historical biogeography, ecology, and species richness. *Trends in Ecology & Evolution*, 19, 639–644.
- Wright, S. (1943) Isolation by Distance. *Genetics*, 28, 114–38.
- Zappi, D.C., Taylor, N.P., Machado, M.C. (2010) In. Forzza, R.C., Baumgratz, F.A., Bicudo, C.E.M., et al. (eds). *Catálogo de plantas e fungos do Brasil*, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 1, 822–832.
- Zepeda-Martínez, V. Mandujano, M.C., Mandujano, F.J., Golubov, J.K. (2013) What can the demography of *Astrophytum ornatum* tell us of its endangered status? *Journal of Arid Environments*, 88, 244–249.