

Influência do gradiente altitudinal da Floresta Atlântica na variação fenotípica e adaptação local de *Pitcairnia flammaea* (Bromeliaceae), endêmica da região

Palavras-Chave: Adaptação local, gradientes altitudinais, especiação

Autores/as:

Tami da Costa Cacossi - UNICAMP

Dr. Cleber Juliano Neves Chaves – UNICAMP

Prof.^a Dr.^a Clarisse Palma da Silva (orientador/a) – UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A Floresta Atlântica, localizada no Neotrópico, é a segunda maior floresta tropical úmida da América do Sul, abrigando uma enorme diversidade vegetal e altos níveis de endemismo (Myers et al. 2000). Este padrão de diversidade tem sido explicado pelo grande dinamismo evolutivo associado à heterogeneidade ambiental imposta pelos amplos gradientes latitudinal (3-30°S) e altitudinal (0-2.900 m asl.) da sua distribuição (Carnaval et al. 2009; Ribeiro et al. 2011). A existência destes gradientes pressupõe a presença de um gradiente ambiental de temperatura (Ribeiro et al. 2011), podendo haver variações no modo como as plantas respondem às pressões ambientais impostas ao longo dos gradientes (Angiletta & Angiletta, 2009).

A família Bromeliaceae apresenta a Floresta Atlântica como um dos principais centros de diversificação e radiação adaptativa (Palma-Silva et al. 2016). *Pitcairnia flammaea* Lindl. (Bromeliaceae) (Figura 1) está localizada ao longo de um gradiente altitudinal na Floresta Atlântica, sendo uma espécie endêmica da região. Ademais, apresenta grandes variações genéticas e morfológicas (Mota et al. 2019). Neste trabalho, pretendemos analisar possíveis efeitos da variação altitudinal na diferenciação fenotípica e adaptação local



Figura 1 - Indivíduos coletados de *P. flammaea* nas localidades: Itatiaia (a) e Pico dos Marins (b, c). Fotos: Dr. Cléber Juliano Neves Chaves.

de populações de *P. flammaea*, correlacionando-os com a história geológica e climática da região. Assim, os objetivos foram: 1) avaliar caracteres funcionais morfológicos e ecofisiológicos nas

populações de diferentes cotas altitudinais a fim de verificar adaptações às condições locais de variação de temperatura; e 2) caracterizar populações de diferentes cotas altitudinais quanto à termotolerância a baixas e altas temperaturas.

METODOLOGIA:

Foram coletadas oito populações de *P. flammea* (cerca de 15 indivíduos por população - totalizando 127 indivíduos), distribuídas em um gradiente de 0-2100 metros de altitude na Floresta Atlântica (Tabela 1). Os indivíduos amostrados foram mantidos em condições controladas na casa de vegetação do departamento de Biologia Vegetal do IB da UNICAMP.

População	Nº de genótipos	Estado	Município	Localidade	Altitude	Latitude	Longitude
PES	8	RJ	Teresópolis	P. N. da Serra dos Órgãos	1496	-22.44797	-43.01323
COR	12	RJ	Rio de Janeiro	P.N. Serra da Tijuca	425	-22.94998	-43.22385
UBA	21	SP	Ubatuba	Praia do Lázaro	20	-23.50845	-45.13502
ITA	20	SP	Itatiaia	P. N. de Itatiaia	1139	-22.42762	-44.61919
RAN	16	RJ	Rio de Janeiro	Morro do Rangel	25	-22.96413	-43.45646
MAR	20	SP	Piquete	Pico dos Marins	2037	-22.49830	-45.13075
MAC	10	RJ	Petrópolis	Pico da Maria Comprida	959	-22.40893	-43.20572
PAP	20	MG	Aiuruoca	Serra do Papagaio	2140	-22.0605	-44.6938

Tabela 1 - Localidade das populações e número de indivíduos coletados de *Pitcairnia flammea*.

Para 117 dos indivíduos coletados, cerca de 14 indivíduos de cada população, foram avaliados os seguintes caracteres funcionais morfológicos: a) Conteúdo de massa foliar seca (CMFS), pela razão entre as massas foliares seca e túrgida, em mg g⁻¹ (Pérez-Harguindeguy et al. 2016); b) Área foliar específica (AFE), através da razão entre área foliar e massa foliar seca (cm²/g) (Ogburn et al. 2012); c) Índice de suculência (IS) das folhas, calculando a razão entre massa de água em saturação total e massa seca do tecido (Ogburn et al. 2012); d) Conteúdo hídrico relativo (CHR), por meio da razão entre a diferença das massas foliares fresca (MF) e seca (MS) em relação à diferença das massas foliares túrgida (MT), ou seja, massa foliar em saturação total de água, e seca (MS) (Smart & Bingham, 1974).

As análises estatísticas foram realizadas no programa R, com auxílio dos pacotes lme4 (Bates et al. 2015), multcomp (Hothorn, Bretz & Westfall, 2008), car (Fox & Weisber, 2019), e lsmeans (Lenth, 2015). Modelos lineares generalizados com e sem efeito misto (GLM e GLMM) foram implementados para indicar a relação entre as variáveis calculadas. A significância do modelo para cada parâmetro foi obtida por meio da ANOVA, e a diferenciação entre populações foi obtida por meio do teste de Tukey (p = 0,05).

A tolerância às variações de temperatura foi testada para 123 indivíduos submetidos a altas temperaturas (ca. 30 °C) e/ou a baixas temperaturas (ca. 5°C), e controle (temperatura ambiente). Para indivíduos testados para os dois limites de termotolerância, foram utilizados diferentes rametes, evitando possível interferência nos resultados. A detecção dos limites de termotolerância nas populações de *P. flammea* amostradas foi realizada seguindo o protocolo descrito por Godoy et al. (2011). Assim, foram medidos parâmetros de fluorescência em um disco foliar (1cm de diâmetro) da região mediana de uma folha de cada indivíduo utilizando um fluorômetro portátil e um banho-maria termostático. As medidas de temperaturas críticas mostraram uma redução de 50% (T50) do rendimento quântico potencial (Fv/Fm) inicial sob temperaturas crescentes (TH: 30 a 65°C) e decrescentes (TC: 10 a -20°C). Por fim, as amplitudes térmicas individuais (TB) foram calculadas a partir das diferenças entre as temperaturas críticas altas (TH50) e baixas (TC50) (i.e. TB = TH50 - TC50). A termotolerância diferencial entre populações foi testada a partir de GLMs utilizando os valores de TH50, TC50 e TB.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Todos caracteres funcionais morfológicos testados apresentaram variação significativa ($p < 0,01$ para CHR), ou altamente significativa ($p < 0,001$ para CMFS, AFE e IS). As análises dos índices de IS e CMFS apresentaram uma clara relação da variação altitudinal com a variação dos caracteres analisados, sugerindo que as plantas de baixas altitudes são as mais suculentas.

Os resultados indicaram que quanto menor a altitude, maior a suculência das folhas. Isto sugere que populações de baixas altitudes possuem um maior investimento em tecidos foliares responsáveis pelo armazenamento de água em detrimento a outros tecidos. A alta suculência, associada à presença de tecidos de armazenamento de água, pode estar relacionada à elevada evapotranspiração nos ambientes com maiores temperaturas ambientais em baixas altitudes (Ogburn et al. 2012; Ataídes, 2018).

Os maiores valores de CMFS e AFE foram observados nas populações de altitudes mais elevadas, enquanto que a variação de CHR não foi significativamente associada à variação na altitude ($p > 0,05$). Considerando que os caracteres ecofisiológicos podem estar influenciando uns aos outros, e sendo AFE é uma função de CMFS, ambos podem se relacionar de diferentes formas em diferentes habitats, o que pode estar interferindo nos resultados. A relação complexa entre os atributos pode estar refletir também o padrão evidenciado por CHR, que não apresentou significância relacionada à altitude (Perez-Harguindeguy et al. 2016).

Ao contrário do que foi observado para três dos caracteres funcionais morfológicos, a termotolerância não seguiu um padrão associado ao gradiente de altitude, sendo que tanto para baixas quanto para altas temperaturas, as populações encontradas em altitudes mais elevadas foram as que apresentaram os maiores níveis de termotolerância ($p < 0,05$), evidenciando os maiores valores de TH50 e os menores valores de TC50. Desta forma, a variação do rendimento

fótico sugere que os limites ótimos de temperatura para fotossíntese podem estar variando de acordo com a altitude ($p < 0,01$).

Em altitudes mais elevadas, diversos estresses abióticos influenciam a vegetação de forma simultânea (Alonso-Amelot, 2008). A hipótese de Levitt (1980) aponta para a possibilidade de os mecanismos de tolerância ao estresse convergirem a uma única via biossintética, de modo que a planta, ao ser submetida a um tipo de estresse abiótico, além de adquirir tolerância a este estresse, desenvolveria tolerância também para outras fontes estressoras a qual ainda não foi exposta (Alonso-Amelot, 2008). Assim, as populações de *P. flammaea* que habitam grandes altitudes podem estar adotando a tolerância como estratégia adaptativa para sobreviver a estresses térmicos, enquanto populações encontradas em locais de menor altitude podem estar investindo em outras estratégias adaptativas como evitação (ou retardo) (Fang & Xiong, 2015; Chaves et al., 2016).

CONCLUSÃO:

Em *Pitcairnia flammaea*, há evidente especialização vegetativa resultante da variação intra-específica associada, dentre outras características, à morfologia das folhas (Mota et al, 2019). Até o presente momento, os resultados obtidos demonstram que a temperatura ambiental relacionada ao gradiente altitudinal pode ter influenciado na seleção de caracteres morfológicos e fisiológicos divergentes em populações de *Pitcairnia flammaea*, o que pode estar associado a adaptações locais e/ou plasticidade fenotípica ao longo do gradiente altitudinal (Martin & McKay 2004; Polato et al. 2018).

BIBLIOGRAFIA:

- ALONSO-AMELOT, Miguel E. High altitude plants, chemistry of acclimation and adaptation. In: **Studies in natural products chemistry**. Elsevier, 2008. p. 883-982.
- ANGILLETTA JR, Michael J.; ANGILLETTA, Michael James. **Thermal adaptation: a theoretical and empirical synthesis**. 2009.
- ATAÍDES, D. S., VASCONCELOS-FILHO, S. C., COSTA, A. C. **Alterações na fisiologia de plantas de feijoeiro crioulos como indicadores de vulnerabilidade ao déficit hídrico e ao aumento de temperatura do ambiente de crescimento**, 51 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade e Conservação) – Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2018.
- BATES, Douglas et al. Fitting linear mixed-effects models using lme4. **arXiv preprint arXiv:1406.5823**, 2014.
- CARNAVAL, Ana Carolina; MORITZ, Craig. Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Biogeography**, v. 35, n. 7, p. 1187-1201, 2008.
- CHAVES, M. M. et al. Controlling stomatal aperture in semi-arid regions—the dilemma of saving water or being cool?. **Plant Science**, v. 251, p. 54-64, 2016.

FANG, Yujie; XIONG, Lizhong. General mechanisms of drought response and their application in drought resistance improvement in plants. *Cellular and molecular life sciences*, v. 72, n. 4, p. 673-689, 2015.

FOX, J. John Fox and Sanford Weisberg. *An R companion to applied regression*, 3rd ed: **Sage Publications** [Google Scholar], 2019.

GODOY, Oscar; DE LEMOS-FILHO, José Pires; VALLADARES, Fernando. Invasive species can handle higher leaf temperature under water stress than Mediterranean natives. ***Environmental and Experimental Botany***, v. 71, n. 2, p. 207-214, 2011.

HOTHORN, Torsten et al. *Simultaneous inference in general parametric models*. 2015.

LENTH, Russell V. Least-squares means: the R package lsmeans. ***Journal of statistical software***, v. 69, n. 1, p. 1-33, 2016.

LEVITT, Jacob et al. **Responses of plants to environmental stresses. Volume II. Water, radiation, salt, and other stresses**. Academic Press., 1980.

MARTIN, Paul R.; MCKAY, John K. Latitudinal variation in genetic divergence of populations and the potential for future speciation. *Evolution*, v. 58, n. 5, p. 938-945, 2004.

MOTA, M. R., PINHEIRO, F., LEAL, B. S. S., WENDT, T., & PALMA-SILVA, C. The role of hybridization and introgression in maintaining species integrity and cohesion in naturally isolated inselberg bromeliad populations. ***Plant Biology***, 21(1), 122-132 (2019).

MYERS, N., MITTERMEIER, R. A., MITTERMEIER, C. G., DA FONSECA, G. A., & KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. ***Nature***, 403(6772), 853 (2000).

OGBURN, R. Matthew; EDWARDS, Erika J. Quantifying succulence: a rapid, physiologically meaningful metric of plant water storage. ***Plant, Cell & Environment***, v. 35, n. 9, p. 1533-1542,

PALMA-SILVA, C., LEAL, B. S., CHAVES, C. J., & FAY, M. F. Advances in and perspectives on evolution in Bromeliaceae. ***Botanical Journal of the Linnean Society***, 181(3), 305-322 (2016).

2012.

PEREZ-HARGUINDEGUY, Natalia et al. Corrigendum to: new handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. ***Australian Journal of botany***, v. 64, n. 8, p. 715-716, 2016.

POLATO, Nicholas R. et al. Narrow thermal tolerance and low dispersal drive higher speciation in tropical mountains. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 115, n. 49, p. 12471-12476, 2018.

RIBEIRO, M. C., MARTENSEN, A. C., METZGER, J. P., TABARELLI, M., SCARANO, F., & FORTIN, M. J. The Brazilian Atlantic Forest: a shrinking biodiversity hotspot. Springer Berlin, Heidelberg In ***Biodiversity hotspots***. pp. 405-434 (2011).

SMART, Richard E.; BINGHAM, Gail E. Rapid estimates of relative water content. ***Plant physiology***, v. 53, n. 2, p. 258-260, 1974.