

EFEITO DA VARIAÇÃO ALTITUDINAL NA ADAPTAÇÃO LOCAL E DIFERENCIAÇÃO REPRODUTIVA DE *PITCAIRNIA FLAMMEA* LINDL., UMA ESPÉCIE ENDÊMICA DA MATA ATLÂNTICA

Palavras-Chave: Variação altitudinal, Temperatura, Germinação

Autores/as:

Danilo Ulbrich Tavares, IB, UNICAMP

Prof^a. Dr^a. Clarisse Palma da Silva (orientadora), IB - UNICAMP

Dr. Cleber Juliano Neves Chaves (Co-orientador), IB, UNICAMP

Dr. Diego Fernando Escobar Escobar (Co-autor), ITV

Isabella Vasques Lemos Silva (Co-autora), IB, UNICAMP

INTRODUÇÃO:

A grande heterogeneidade ambiental advinda de uma ampla extensão latitudinal (3-30°S) e altitudinal, acrescida de um grande dinamismo evolutivo de expansões e retrações populacionais históricas, ajuda a explicar a grande diversidade e endemismo observadas atualmente na Floresta Atlântica. Contudo, ainda precisamos de estudos para realmente compreender os fatores que promovem tamanha diversidade e como eles agem sobre os organismos. A variação da altitude, por exemplo, está associada a alterações marcantes na pressão atmosférica, radiação solar, precipitação, sazonalidade e, principalmente, na temperatura ambiental.

Investigar o efeito de gradientes ambientais na diferenciação fenotípica e reprodutiva entre populações de espécies amplamente distribuídas pela Floresta Atlântica, pode nos ajudar a compreender os processos que levaram à elevada diversificação e endemismo observadas nos trópicos. *Pitcairnia flammea* Lindl. é uma bromélia terrestre endêmica da Floresta Atlântica distribuída em um amplo gradiente latitudinal e altitudinal (ver Tabela 1). Essa espécie apresenta uma grande variabilidade morfológica (ver Smith e Downs, 1974), e tem sido reconhecida como um complexo de espécies. Essa grande variação morfológica e de nichos, aliada ao baixo fluxo gênico entre suas populações, torna *P. flammea* um bom modelo para estudos de especiação e adaptação local nos trópicos.

Utilizando coletas de *P. flammea* e exsicatas de herbários digitalizadas, conseguimos avaliar o período de floração e frutificação de diferentes populações, possibilitando o registro das diferenças fenológicas entre as localidades. O experimento de germinação por sua vez teve o intuito de avaliar a possível adaptação local relacionada ao fator abiótico que mais varia em mudanças de altitude, a temperatura.

METODOLOGIA:

Relação entre a variação de altitude da Floresta Atlântica e a sazonalidade florística de populações de *Pitcairnia flammea*

Para testar o efeito de variações altitudinais da Floresta Atlântica na biologia reprodutiva de *P. flammea*, utilizamos dados de coletas e observações vindas de bancos de dados disponíveis online – Global Biodiversity Information Facility (GBIF; <https://www.gbif.org/>), speciesLink (SPLink; <http://sblink.cria.org.br/>), REFLORA (<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/>) e INaturalist (<https://www.inaturalist.org/home>). Que juntos totalizam cerca de 1500 registros para a espécie, e a partir desses, fizemos uma triagem selecionando os registros contendo informações sobre a presença/ausência de estruturas reprodutivas (flores e/ou frutos) e com coordenadas geográficas precisas. Também foram realizadas observações a partir de plantas herborizadas digitalizadas, disponíveis nos bancos de dados citados acima. As datas de início e término de floração/frutificação foram estimadas a partir dos meses em que foram observadas flores/frutos em cada faixa de altitude. Utilizaremos modelos lineares simples para testar a associação entre a presença/abundância de flores e frutos e a altitude dos registros. Estes dados também poderão ser associados a outros fatores, como a latitude, temperatura ambiental e precipitação (estimada a partir de dados bioclimáticos; e.g., WorldClim, worldclim.org; Ranjitkar et al., 2013).

Efeito de um gradiente altitudinal da Floresta Atlântica na germinação de sementes de *P. flammea*

Coleta de sementes

Foram coletados frutos de 8 populações localizadas nos estados de Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo, em um gradiente de 0 a 2000 metros de altitude dentro da Floresta Atlântica (Tabela 1). Após a coleta dos frutos de cada população, foi feita a armazenagem das sementes em condições controladas em sacos ziplock com sílica, à temperatura ambiente, para prevenir o desenvolvimento de fungos até o início do processo de germinação.

População	Estado	Município	Localidade	Altitude (m.a.s.l.)	Latitude	Longitude
UBA	SP	Ubatuba	Praia do Lázaro	20	-23.50845	-45.13502
RAN	RJ	Rio de Janeiro	Morro do Rangel	25	-22.96413	-43.45646
COR	RJ	Rio de Janeiro	P.N. Serra da Tijuca - Corcovado	425	-22.94998	-43.22385
MAC	RJ	Petrópolis	Pico da Maria Comprida	959	-22.40893	-43.20572
ITA	SP	Itatiaia	P. N. de Itatiaia	1139	-22.42762	-44.61919
PES	RJ	Teresópolis	P. N. da Serra dos Órgãos	1496	-22.44797	-43.01323
MAR	SP	Piquete	Pico dos Marins	2037	-22.49830	-45.13075
PAP	MG	Aiuruoca	P. E. Serra do Papagaio	2140	-22.0605	-44.6938

Tabela 1. Populações de *Pitcairnia flammea* de onde foram coletadas as sementes para os testes de germinação.

Semeadura e acompanhamento

Para investigar o nicho térmico da germinação das sementes de *P. flammea*, calculamos a taxa de germinação de sementes coletadas de diferentes populações da espécie em seis temperaturas distintas (5°C, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C e 35°C). Os testes foram feitos em um equipamento (figura 1) que consiste em banhos-maria quente e frio ligados a uma placa de alumínio, criando assim uma superfície com gradiente térmico onde ficarão as placas de petri com as sementes. Com o auxílio de sensores ao longo da placa de alumínio conseguimos saber com precisão a temperatura de cada região da placa e assim onde posicionamos cada grupo.

Para cada população, foram feitas seis repetições por faixa de temperatura, onde semeamos 20 sementes por placa de petri com uma camada dupla de papel filtro de gramatura 5 embebidos à saturação em água destilada, ficando abertas para reposição de água quando necessário. As sementes nas faixas de

temperatura de 30° e 35° ficaram imersas em água destilada uma vez que o apenas com o papel filtro saturado não era suficiente para manter as sementes úmidas entre as observações.

Os testes foram feitos com 36 placas e 720 sementes por população, no total. As observações ocorreram a cada 2 dias para contagem das germinações ao longo de 60 dias de experimento. Foram consideradas germinadas as sementes com hipocótilo de tamanho superior a um terço do comprimento da semente ($\approx 0,5$ mm; **Fig. 1 D**). Ao fim do experimento, foi verificada a viabilidade das sementes não germinantes através da imersão dessas em solução de tetrazólio e a posterior análise dos embriões em microscópio.

Análise dos resultados de germinação

A germinabilidade das sementes de cada população analisada, sob cada temperatura, foi calculada considerando a proporção de sementes germinadas ao longo do tempo em relação às sementes viáveis não germinadas (i.e., número de sementes germinadas/número total de sementes viáveis X 100).

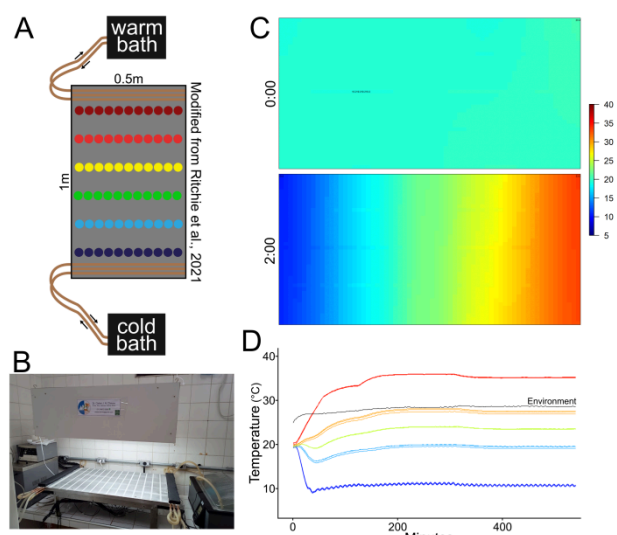


Figura 1 - Esquema da placa térmica utilizada no experimento de germinação (A). Imagem do equipamento (B). Gradiente de temperatura (C). Gráfico da temperatura ao longo do tempo em cada população (D).

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Exsicatas

Catalogamos os dados das plataformas online citadas anteriormente, obtendo dados confiáveis de cerca de 240 indivíduos de *P. flammea* apresentando parte reprodutiva funcional das mais de 600 coletas analisadas. Além disso, foram catalogadas cerca de 385 exsicatas de *P. flammea* provenientes de 33 herbários ao redor do mundo, que se encontram em fase reprodutiva e possuem localidade precisa. Todos esses exemplares estão passando por análise das estruturas reprodutivas a fim de identificar o estágio de desenvolvimento, sendo eles botão, flor ou fruto. Dessa forma conseguiremos traçar a fenologia das diferentes populações através da localização e data das coletas, além de podermos observar se ocorreu alguma alteração no período fenológico das populações ao longo dos anos.

Experimento de germinação

Foram realizados testes utilizando 6 populações, sendo elas UBA, RAN, COR, ITA, PES e MAR. Ao total foram semeadas 4320 sementes, sendo 720 de cada população. Por sua vez, cada população é dividida em 6 temperaturas diferentes, com 6 repetições cada em uma placa de petri com 20 sementes, totalizando 120 sementes por condição. Para facilitar o entendimento tanto nas figuras quanto nas tabelas a seguir, as populações estão organizadas da menor altitude para a maior, sendo essas UBA e MAR respectivamente. Nas imagens as cores mais quentes representam populações com menores altitudes enquanto cores mais frias indicam as com maiores altitudes.

Temperatura (°C)	Total de Sementes Germinadas						Total
	UBA	RAN	COR	ITA	PES	MAR	
10	1	12	11	2	8	21	55
15	74	81	105	103	97	97	557
20	99	108	115	110	109	106	647
25	118	80	110	118	122	98	646
30	75	18	30	77	79	62	341
35	17	0	0	17	33	68	135
Total	384	299	371	427	448	452	2381

Tabela 2. Total de Sementes Germinadas

Nas imagens as cores mais quentes representam populações com menores altitudes enquanto cores mais frias indicam as com maiores altitudes.

Com os dados coletados, podemos ver um grande aumento de germinações nas temperaturas próximas a 20° C (Tabela 2), podendo indicar que o nicho térmico da espécie. Como esperado, as temperaturas extremas possuem uma taxa de germinação menor em relação a temperaturas intermediárias, mostrando a influência do estresse térmico no processo de germinação. Podendo ser observado no experimento, uma vez que das 2381 germinações cerca de 54% ocorreram nas temperaturas centrais (20° e 25°C). Também foi possível observar que populações de altitudes maiores - ITA, PES e MAR - acabaram por ter maior sucesso germinativo em situações de estresse térmico em temperaturas mais baixas, como já esperávamos. Porém, essas mesmas populações também tiveram uma taxa de germinação muito maior que as populações de até 500 metros. Com isso, podemos pensar que as populações de localidades de maior altitude podem estar adaptadas a passarem por estresses térmicos, enquanto as populações de locais mais baixos não suportam variações de temperatura.

Após a germinação, o desenvolvimento das plântulas foi acompanhado e contabilizamos as mortes dessas ao longo dos 60 dias. Com isso obtivemos também o número de plântulas viáveis ao fim do experimento. Ao compararmos esses dados (tabela 3) com os números absolutos de germinação (tabela 2), percebemos que o extremo mais quente do gradiente acaba por ter um maior impacto para a sobrevivência das plântulas uma vez que a

Temperatura (°C)	Total de Viáveis ao Final do Experimento						
	UBA	RAN	COR	ITA	PES	MAR	
10	1	12	11	2	8	21	55
15	71	77	105	103	96	95	547
20	93	106	115	110	105	100	629
25	111	79	110	118	120	83	621
30	54	18	30	77	50	44	273
35	16	0	0	17	31	50	114
Total	346	292	371	427	410	393	2239

Tabela 3. Total de plantas viáveis ao final do experimento.

porcentagem de plantas viáveis ao fim do experimento é menor. Quando olhamos para as populações separadamente nos deparamos com uma taxa maior de mortalidade nas que provêm de localidades com grandes altitudes. Contudo, devemos levar em conta que apenas uma população de localidade baixa conseguiu iniciar o processo de germinação, e mesmo assim a quantidade de sementes germinadas foi menor em comparação com as populações altas. Com isso, mesmo com uma taxa de mortalidade de plântulas maior, as populações altas continuam tendo mais indivíduos viáveis ao fim do experimento.

CONCLUSÕES:

Com os dados coletados do experimento de germinação podemos inferir que o nicho térmico de germinação da *P. flammea* se encontra entre 20 e 25 graus Celsius. Contudo, para conseguirmos chegar aos nichos térmicos de cada população e compará-los em relação à altitude em que as populações ocorrem, ainda são necessárias outras análises que já estão sendo feitas. Também observamos que temperaturas elevadas prejudicam mais a viabilidade dos indivíduos que temperaturas mais baixas, apesar de proporcionar um maior número de sementes germinadas.

Em relação aos dados das exsiccatas, quando terminarmos de processá-los poderemos relacionar o período de floração e frutificação com o momento do ano em que os frutos estiverem maduros e liberarem as sementes, e assim correlacioná-los com o nicho térmico de cada população e a temperatura média na localidade durante esse período. Dessa forma poderemos observar a existência de uma adaptação local tanto fenológica quanto germinativa entre as populações analisadas. Também será possível analisar se, com o aumento da temperatura nas regiões de ocorrência da *P. flammea* ao longo dos anos devido às mudanças climáticas, houve alguma alteração significativa no período fenológico da espécie.

BIBLIOGRAFIA:

RIBEIRO, J. F.; WALTER, B. M. T.; SANCHES, M. C. "Fitofisionomias do bioma Cerrado: síntese terminológica e relações florísticas". *Cerrado: ecologia e flora*. Embrapa Informação Tecnológica, p. 191-212, 2011.

- PRANCE, G. T. *Forest refuges: evidence from woody angiosperms*. In: Prance, G. T. (ed.) *Biological diversification in the tropics*. Columbia University Press, p. 137-158, 1982.
- SILVA, J. F.; FARINACCIO, M. A.; SARTORI, A. L. B.; PERES, M. A. "Diversidade florística e estrutura de um fragmento de Cerrado sentido restrito na Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, MG, Brasil". *Acta Botanica Brasílica*, v. 18, n. 4, p. 659-669, 2004.
- LEITE, K. R. B.; SILVA, M. F. F.; PINTO, J. R. R.; OLIVEIRA-FILHO, A. T. "Floristic relationships of the Seasonally Dry Tropical Forests of the Brazilian Cerrado". *Flora*, v. 220, p. 74-82, 2016.
- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A. B.; KENT, J. "Biodiversity hotspots for conservation priorities". *Nature*, v. 403, p. 853-858, 2000.
- CARNAVAL, A. C.; MORITZ, C. "Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic forest". *Journal of Biogeography*, v. 35, n. 7, p. 1187-1201, 2008.
- KÖRNER, C. *Alpine Plant Life: Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems*. 2nd ed. Springer, 2003.
- KÖRNER, C. "The use of 'altitude' in ecological research". *Trends in Ecology & Evolution*, v. 22, n. 11, p. 569-574, 2007.
- KUMAR, A.; VATS, S. K. "Plants and their allelopathic behavior: a review". *Journal of Crop Science and Biotechnology*, v. 20, n. 3, p. 1-14, 2017.
- SMITH, L. B.; DOWNS, R. J. *Flora Neotropica, Monograph No. 14, Part 1: Bromelioideae (Bromeliaceae)*. Hafner Press, 1974.
- MOTA, F. P.; SANTOS, J. C.; LEAL, I. R.; SCHMIDT, I. B.; SOUZA-NETO, S. F. "Fire management in the Brazilian savanna: First steps and the way forward". *Journal of Applied Ecology*, v. 57, n. 5, p. 1116-1122, 2020.
- KRZYŻANOWSKI, F. C.; VIEIRA, R. D.; FRANÇA-NETO, J. B. *Vigor de sementes: conceitos e testes*. ABRATES, 1999.