

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – ICB
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA GERAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA,
CONSERVAÇÃO E MANEJO DA VIDA SILVESTRE - ECMVS

Silvana Aparecida Barbosa de Castro

ECOFISIOLOGIA FOLIAR DE
MELASTOMATACEAE DOS
CAMPOS RUPESTRES

Orientador: Prof. Dr. José Pires de Lemos-Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Augusto de Oliveira e Silveira

Novembro/2015

Belo Horizonte-MG

Silvana Aparecida Barbosa de Castro

**ECOFISIOLOGIA FOLIAR DE
MELASTOMATACEAE DOS
CAMPOS RUPESTRES**

Tese apresentada ao Instituto de
Ciências Biológicas da
Universidade Federal de Minas
Gerais como requisito parcial
para a obtenção do título de
Doutor em Ecologia

Orientador: Prof. Dr. José Pires de Lemos-Filho

Co-orientador: Prof. Dr. Fernando Augusto de Oliveira e Silveira

Novembro/2015

Belo Horizonte-MG

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| AGRADECIMENTOS | 6 |
| Introdução Geral | 8 |
| Referências bibliográficas | 18 |
| Capítulo 1 | 21 |
| Traços funcionais foliares em Melastomataceae dos Campos Rupestres são marcados por sinal filogenético | 22 |
| Introdução | 26 |
| Material e Métodos | 29 |
| Área de estudo | 29 |
| Coleta de dados de traços funcionais foliares | 30 |
| Análises estatísticas e ecofilogenéticas | 31 |
| Resultados | 35 |
| Discussão | 45 |
| Referências bibliográficas | 52 |
| Capítulo 2 | 59 |
| Relações hídricas e fotossíntese em Melastomataceae do campo rupestre: efeitos da sazonalidade e do habitat | 60 |
| Introdução | 64 |
| Material e Métodos | 66 |
| Área de estudo e espécies selecionadas | 66 |
| Avaliação do status hídrico | 68 |
| Avaliação da fotoinibição | 70 |
| Análise Estatística | 71 |
| Resultados | 71 |

| | |
|---|-----------|
| <i>Avaliação do status hídrico e fotoinibição</i> ----- | 71 |
| Discussão ----- | 85 |
| Referências bibliográficas ----- | 92 |
| Capítulo 3 ----- | 95 |
| Tolerância ao calor do PSII em Melastomataceae do campo rupestre: efeitos da sazonalidade e do habitat ----- | 96 |
| Introdução ----- | 100 |
| Material e Métodos ----- | 103 |
| <i>Área de estudo e espécies selecionadas</i> ----- | 103 |
| <i>Avaliação da termotolerância do PSII</i> ----- | 105 |
| <i>Avaliação da plasticidade fenotípica</i> ----- | 106 |
| <i>Análise estatística</i> ----- | 107 |
| Resultados ----- | 108 |
| <i>Avaliação da termotolerância do PSII</i> ----- | 108 |
| <i>Relações entre tolerância do PSII ao calor e variáveis ecofisiológicas</i> ----- | 112 |
| <i>Plasticidade fenotípica na tolerância ao calor do PSII</i> ----- | 115 |
| Discussão ----- | 116 |
| Referências bibliográficas ----- | 121 |
| Considerações Finais ----- | 130 |

Minas não é palavra montanhosa
É palavra abissal
Minas é dentro e fundo
As montanhas escondem o que é Minas.
No alto mais celeste, subterrânea,
é galeria vertical varando o ferro
para chegar ninguém sabe onde.
Ninguém sabe Minas. A pedra
o buriti
a carranca
o nevoeiro
o raio
selam a verdade primeira,
sepultada em eras geológicas de sonho.
Só mineiros sabem.
E não dizem nem a si mesmos o
irrevelável segredo
chamado Minas.

Carlos Drummond de Andrade

***DEDICO ESSA TESE AOS MEUS QUERIDOS PAIS MARIA DA GLÓRIA E
JOAQUIM BARBOSA***

AGRADECIMENTOS

Esse é o momento em que paramos para pensar em todas as pessoas que ajudaram nesse trabalho ao longo de quatro anos, e não foram poucos.

Primeiro agradeço a Deus por todas as oportunidades que me foram concedidas, aos meus pais, sem o apoio incondicional da minha querida Mãe e do meu querido Pai eu não chegaria ao final dessa tese. Também não tenho palavras para agradecer ao meu companheiro Kleiton que sempre esteve ao meu lado, me apoiando, e pela sua importante ajuda nas coletas de campo em vários momentos desse trabalho, e principalmente, por ter sido tão paciente nos momentos que mais precisei.

Agradeço ao professor José Pires por ter aceitado me orientar nesse trabalho, por ter sido paciente, pelas ótimas ideias dadas ao longo desses quatro anos, e por ter compartilhado um pouco de seu conhecimento sobre a ecofisiologia. Certamente aprendi muito com sua orientação!

Agradeço também ao meu co-orientador prof. Fernando Augusto, por ter me apresentado as Melastomataceae dos campos rupestres, pelas quais fiquei fascinada desde o primeiro momento! Agradeço-o também pelas ótimas ideias, por todo o aprendizado, e por ter sido tão disponível na etapa final desse trabalho, visto que suas demandas são imensas para com outros alunos, e para com seu filhinho João.

Agradeço também ao prof. Fernandinho pelos ensinamentos de anatomia foliar, pela ótima parceria e pelas várias conversas e *insights* que muito me ajudou no desenvolvimento desse trabalho, e por ter me mostrado que menos pode ser mais! E pela ótima convivência e apoio ao longo desses anos.

Agradeço também a todas as pessoas que participaram desse trabalho, ajudando nas coletas de campo, e ai a lista é grande: à Gisele pela grande ajuda no início do trabalho; à Janaína Garcia, pela amizade, e também pela importante ajuda e por estar comigo no campo em vários momentos; ao Vinícius por ter me orientado na anatomia, sem sua contribuição não conseguiria desenvolver parte desse trabalho; à Andressa por ter me acompanhado no campo inúmeras vezes, sem ela também esse trabalho não seria possível; ao Mateus Scarpelli e Matheus Lopes, Alexandre, Alessandra, Fernanda Trancoso, Daniela, Marcão, Cristiane, Dávila, Laura, Alexandre Duarte, agradeço a todos pela ajuda nas coletas de campo. Agradeço também ao Wagner do laboratório de Anatomia Vegetal com sua imprescindível ajuda em vários momentos. Agradeço a toda à equipe de funcionários dos serviços gerais, motoristas, técnicos. Também agradeço à Cris e Fred da secretaria da pós-graduação em Ecologia, Conservação e Manejo da Vida Silvestre, por estarem sempre prontos a ajudar e esclarecer minhas dúvidas burocráticas. Agradeço também a todos os funcionários do Parque Nacional da Serra do Cipó por todo o apoio logístico durante esses anos.

Agradeço também ao prof. Marcel, Fernandinho e Newton por terem aceito o convite para banca de qualificação, e à todos que aceitaram participar da banca de defesa dessa tese.

Agradeço às agências de fomento CAPES pela bolsa de Doutorado, ao CNPq (MCTI / CNPq 14/2012) pelo apoio financeiro ao projeto.

Sem a contribuição de cada uma dessas pessoas esse trabalho não seria possível!

Introdução Geral

Estudos ecofisiológicos em sua maioria têm como objetivo avaliar a resposta de organismos de acordo com o ambiente, dando informações de como mudanças ambientais podem influenciar o *fitnes* do indivíduo, e identificar quais mecanismos podem favorecer a ocupação de diferentes nichos (Ackerly 2000; Luttge *et al.* 2007). Traços funcionais têm sido amplamente utilizados em estudos ecológicos, especialmente, em estudos que buscam explicar como as comunidades vegetais são estruturadas (Diaz *et al.* 2004; McGill *et al.* 2006; Westoby & Wright 2006; Cornwell & Ackerly 2009; Götzenberger *et al.* 2012).

Em relação às plantas, características funcionais incluem tamanho da semente, concentração de nutrientes na folha, taxa fotossintética, área foliar específica, entre outros (Ackerly *et al.* 2000; Wright *et al.* 2004). Tais características podem ser ditas como aquelas que refletem adaptações a variações no ambiente e *trade-offs* entre diferentes funções no organismo, e fornece informações sobre fatores bióticos e abióticos que estruturam as comunidades (Kraft *et al.* 2008; Webb *et al.* 2010).

Inúmeros processos estão envolvidos na montagem de comunidades, tais como diferenciação de nicho, filtros ambientais e competição por recursos (Weiher & Keddy 1995; Ackerly 2003; Stubbs & Wilson 2004; Cornwell *et al.* 2006; Cornwell & Ackerly 2009), e o estudo de traços funcionais foliares em comunidades de plantas pode nos dar indícios de quais processos são responsáveis por moldar a evolução de espécies em comunidades vegetais.

Também a adaptação dos indivíduos para um dado ambiente pode não ser somente resultado do ambiente atual, mas é também resultado de eventos ocorridos no

passado, de forma que o nicho é determinado pela história filogenética (Wiens & Graham 2005) de tal forma que aspectos evolutivos devem ser levados em consideração também em estudos ecofisiológicos quando possível. Nas últimas décadas vários estudos ecofisiológicos têm levado em consideração a informação filogenética (Ackerly 2004; Zhenget *et al.* 2009; Gallagher & Leishman 2012; Barolotto *et al.* 2012; Batalha *et al.* 2011; Silveira *et al.* 2012), mas, estudos dessa natureza com espécies localizadas em Campo Rupestre são ainda escassos.

Nessa tese avaliamos a evolução de traços funcionais foliares em 30 espécies de Melastomataceae dos campos rupestres em um contexto filogenético. Nosso projeto é pioneiro por ser talvez um dos poucos trabalhos a utilizar uma abordagem integrativa para o estudo de atributos foliares em espécies de plantas localizadas no campo rupestre, levando em consideração a história evolutiva das espécies. Através de métodos comparativos filogenéticos mapeamos a evolução de características funcionais foliares de 30 espécies de Melastomataceae localizadas em habitats méxicos e xéricos no Parque Nacional da Serra do Cipó, Minas Gerais. Escolhemos essa família por ser uma das mais representativas Cerrado, especialmente, nos campos rupestres (Mendonça *et al.* 2008; Silveira *et al.* 2013), e devido à sua grande diversidade filogenética, ecológica e funcional, ocupando inúmeros habitats (Figura 1), e com diferentes estratégias morfológicas foliares (Figura 2) servindo como um bom modelo de estudo para testarmos nossas hipóteses sobre evolução de características funcionais foliares nos campos rupestres.

Os campos rupestres são ecossistemas que possuem umas das floras mais ricas do mundo, com alto grau de endemismo, e possuem uma enorme variedade de habitats, e caracterizado também por ter uma baixa disponibilidade de nutrientes no solo, alta luminosidade e variação sazonal na disponibilidade de água no solo (Giulietti *et*

al.1997; Conceição e Pirani 2007; Silveira *et al.* 2015), com uma marcante redução na precipitação na estação seca (entre julho e setembro) Figura 3. Essa sazonalidade na disponibilidade de água no solo foi verificada em medidas de umidade do solo realizadas em habitats méxico e xéricos (Figura 4) em que observamos que quase todo o período avaliado a umidade do solo foi maior em habitat méxico.

De acordo com Silveira *et al.* 2015, os campos rupestres abrigam em torno de 5011 espécies de plantas vasculares, distribuídas em 134 famílias e 753 gêneros, correspondendo a cerca de 14,7% de toda a flora vascular brasileira em uma área de 0,78% do território nacional. Embora sua extrema riqueza de espécies, os campos rupestres são atualmente um dos ecossistemas altamente ameaçados, principalmente pela ocupação urbana, exploração turística, mineração, introdução de espécies exóticas, que têm levado à crescente perda de habitats (Barbosa *et al.* 2010; Hilário *et al.* 2011; Fernandes *et al.* 2014). Com isso, estudos que avaliem a evolução de traços funcionais de espécies localizadas nesse rico ecossistema são de grande importância para conhecermos quais processos são estruturadores de suas comunidades. Tais estudos podem apontar como as espécies desse ecossistema podem responder ao crescente impacto das atividades humanas, e ao cenário atual de mudanças climáticas globais.

Essa tese está estruturada em três capítulos onde buscamos responder a várias perguntas sobre a evolução de traços foliares em Melastomataceae. No primeiro capítulo avaliamos a evolução de características funcionais foliares em 30 espécies de Melastomataceae, localizadas em ambiente méxico e xérico usando o método de contraste independente de filogenia para avaliar como pode ter se dado a evolução das características foliares ao longo da história evolutiva de Melastomataceae dos campos rupestres. Avaliamos também a ocorrência de sinal filogenético e possível conservação de nicho, e a decomposição da diversidade de características ao longo da história

evolutiva das espécies avaliadas. No segundo capítulo avaliamos respostas ecofisiológicas, especialmente o desempenho fotossintético através de medidas da fluorescência da clorofila *a* e relações hídricas em doze espécies localizadas em habitats mésico e xérico avaliando possíveis diferenças entre habitats e variação sazonal nas respostas ecofisiológicas. E no terceiro capítulo avaliamos a termotolerância de 12 espécies a fim de verificarmos como o aumento da temperatura pode afetar fenômenos ecofisiológicos de espécies de Melastomataceae dos campos rupestres.

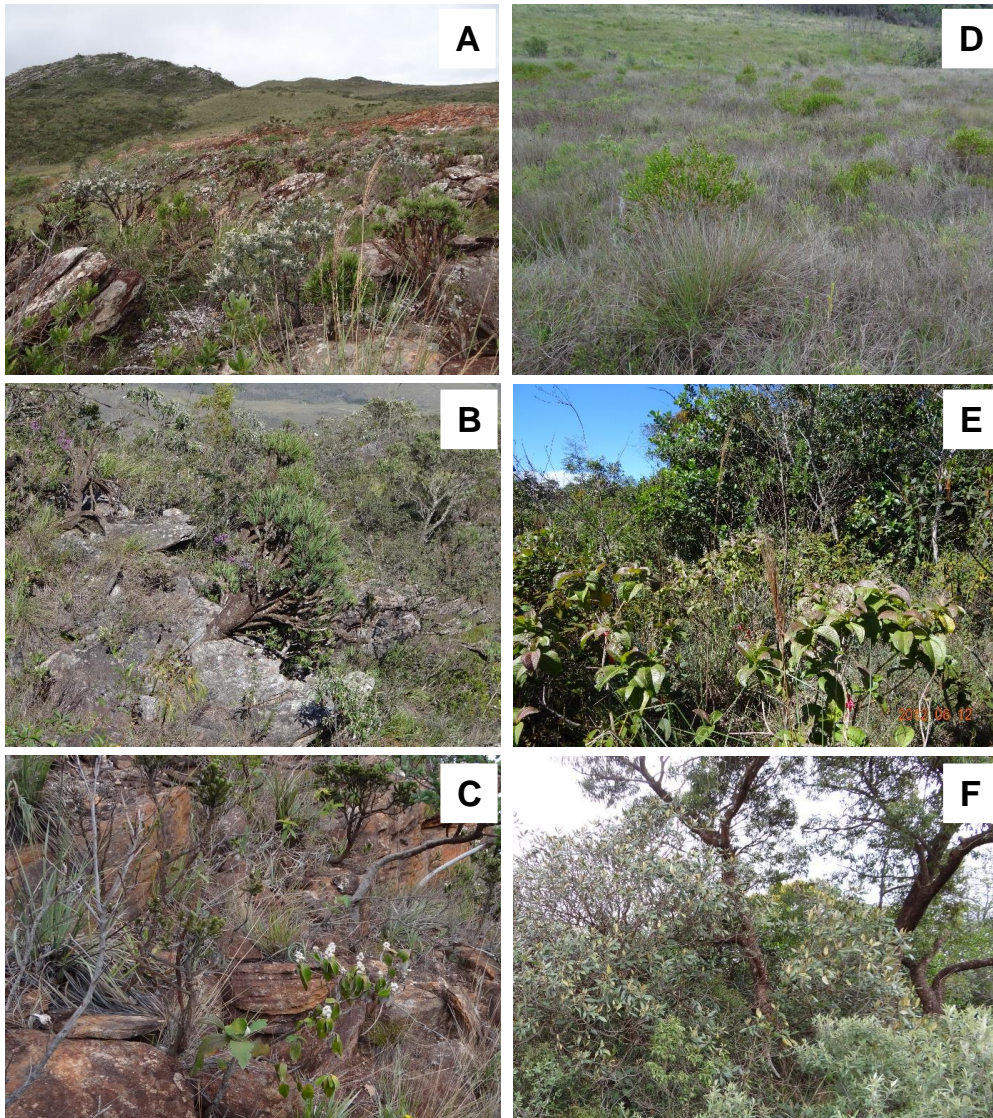


Figura 1. Exemplos de habitats xéricos (A, B, C) e mésicos (D, E, F) de localização das espécies usadas para a avaliação dos traços funcionais foliares

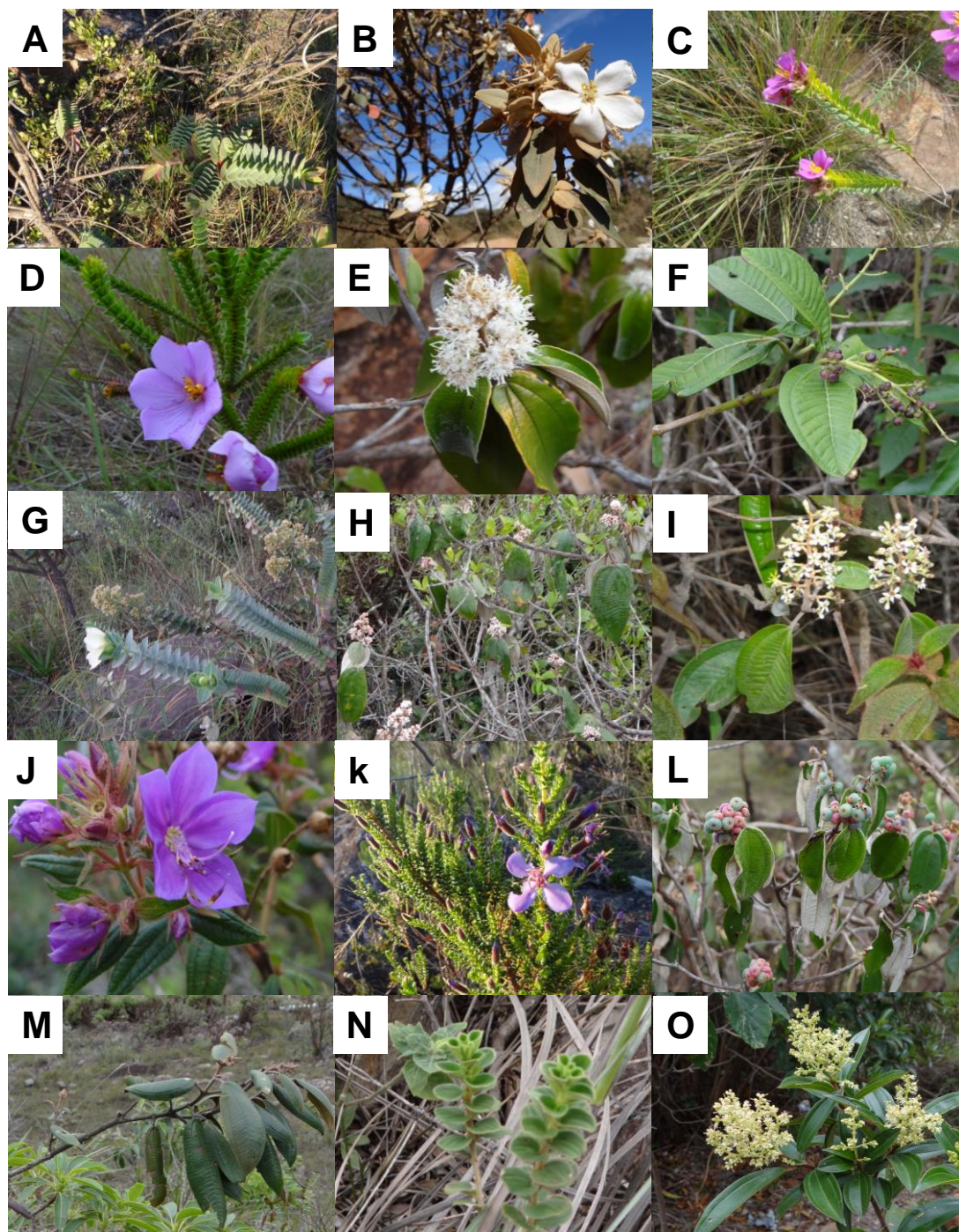


Figura 2. Diversidade foliar em Melastomataceae dos campos rupestres: *Lavoisiera campos-portoana* (A), *Trembleya laniflora* (B), *Lavoisiera confertiflora* (C), *Lavoisiera imbricata* (D), *Miconia albicans* (E), *Miconia chamissois* (F), *Lavoisiera cordata* (G), *Clidemia urceolata* (H), *Miconia stenostachya* (I), *Rynchantera grandiflora* (J), *Comolia sertularia* (K), *Miconia cipoensis* (L), *Miconia coralina* (M), *Tibouchina cardinalis* (N) e *Miconia theaezans* (O).

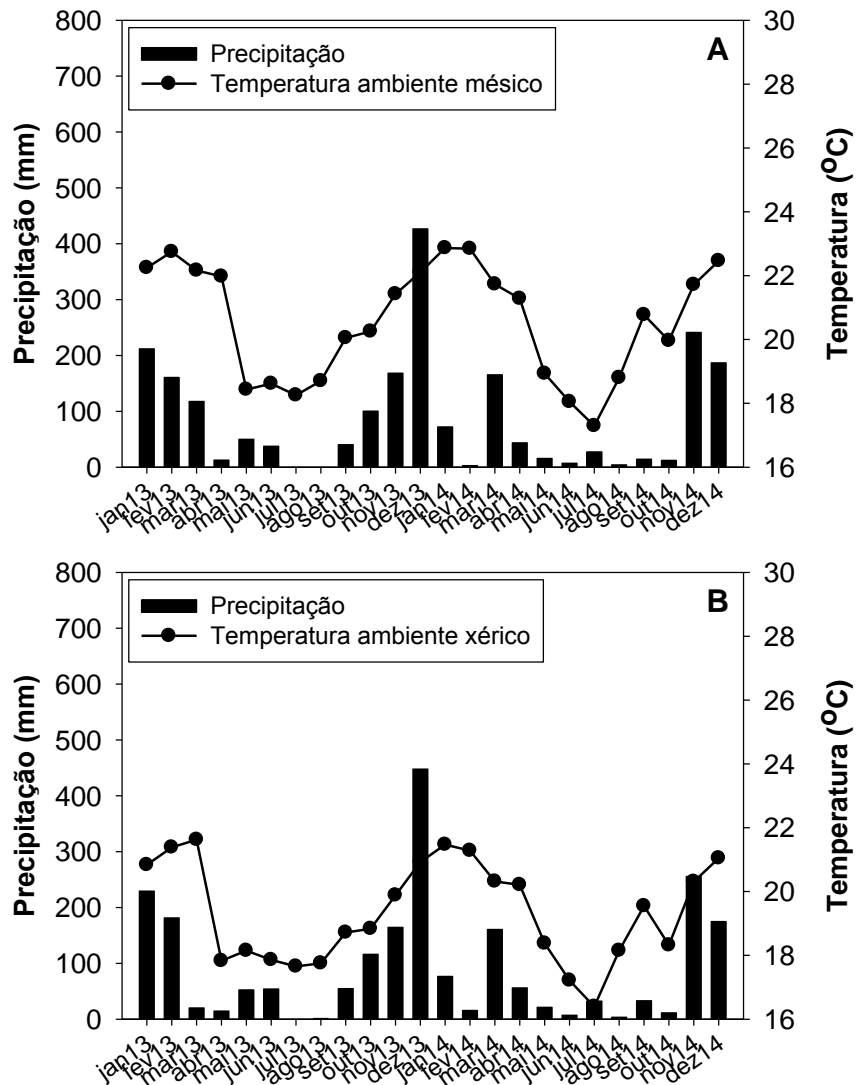


Figura 3. Precipitação e temperatura média do ar para os anos de 2013 e 2014 no ambiente mésico (A) (1000 m de altitude) e xérico (B) (1200 m de altitude) no Parque Nacional da Serra do Cipó – MG.

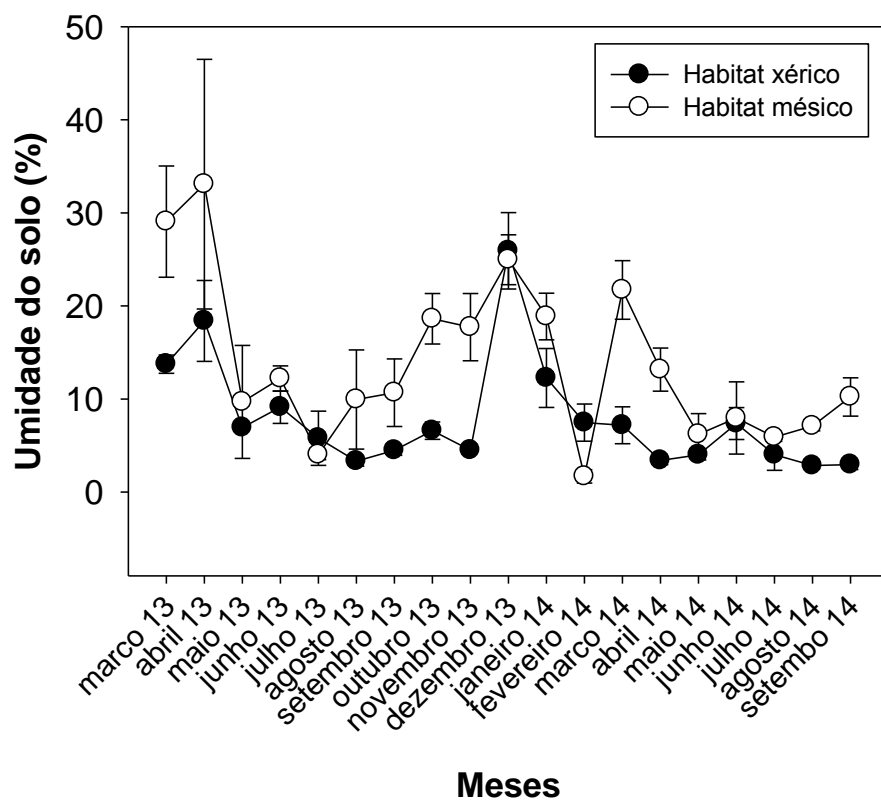


Figura 4. Valores médios e desvio-padrão de umidade volumétrica do solo ao longo de 2013 e 2014 em habitat mésico e xérico no Parque Nacional da Serra do Cipó – MG.

Tabela 1. Espécies avaliadas nos diferentes capítulos com distribuição geográfica e seu respectivo habitat, e altitude no campo rupestre, Serra do Cipó-MG.

| Tribo | Espécies utilizadas em cada capítulo | | | | | | |
|--------------|--------------------------------------|--------------|---------|--------------|------------|------------|------------|
| | Espécies | Distribuição | Habitat | Altitude (m) | Capítulo 1 | Capítulo 2 | Capítulo 3 |
| Melastomeae | <i>Macaírea radula</i> | Ampla | Mésico | 995 | X | | |
| | <i>Marcetia taxifolia</i> | Ampla | Xérico | 996 | X | | |
| | <i>Comolia sertularia</i> | Endêmica | Xérico | 1334 | X | | |
| | <i>Comolia stenodon</i> | Endêmica | Mésico | 1295 | X | | |
| | <i>Tibouchina candolleana</i> | Ampla | Mésico | 1224 | X | X | X |
| | <i>Tibouchina heteromalla</i> | Ampla | Mésico | 1379 | X | X | X |
| | <i>Tibouchina cardinalis</i> | Endêmica | Xérico | 1247 | X | X | X |
| | <i>Tibouchima martiusiana</i> | Ampla | Xérico | 1247 | | X | X |
| Miconieae | <i>Miconia albicans</i> | Ampla | Xérico | 1051 | X | X | X |
| | <i>Miconia corallina</i> | Ampla | Xérico | 1247 | X | | |
| | <i>Miconia rimalis</i> | Ampla | Xérico | 1247 | X | | |
| | <i>Miconia cipoensis</i> | Endêmica | Xérico | 1247 | X | X | X |
| | <i>Miconia alborufescens</i> | Endêmica | Xérico | 1037 | X | | |
| | <i>Miconia chamissois</i> | Ampla | Mésico | 1000 | X | X | X |
| | <i>Miconia theaezans</i> | Ampla | Mésico | 1224 | X | X | X |
| | <i>Miconia stenostachya</i> | Ampla | Mésico | 1000 | X | | |
| | <i>Clidemia urceolata</i> | Ampla | Mésico | 1000 | X | | |
| | <i>Leandra aurea</i> | Ampla | Xérico | 1247 | X | | |
| Microlicieae | <i>Lavoisiera campos-portoana</i> | Endêmica | Xérico | 1247 | X | X | X |
| | <i>Lavoisiera confertiflora</i> | Endêmica | Mésico | 1247 | X | X | X |
| | <i>Lavoisiera caryophyllea</i> | Endêmica | Mésico | 995 | X | | |
| | <i>Lavoisiera cordata</i> | Endêmica | Xérico | 1037 | X | | |
| | <i>Lavoisiera glandulifera</i> | Endêmica | Xérico | 1295 | X | | |
| | <i>Lavoisiera imbricata</i> | Endêmica | Mésico | 1295 | X | | |
| | <i>Microlicia fulva</i> | Ampla | Mésico | 1295 | X | | |
| | <i>Microlicia graveolens</i> | Endêmica | Mésico | 1295 | X | | |
| | <i>Microlicia tetrasticha</i> | Endêmica | Mésico | 1295 | X | | |

| | | | | | | |
|--------------------------------|----------|--------|------|---|---|---|
| <i>Microlicia avicularis</i> | Endêmica | Xérico | 1334 | X | | |
| <i>Trembleya parviflora</i> | Endêmica | Mésico | 1295 | X | X | X |
| <i>Trembleya laniflora</i> | Endêmica | Xérico | 1334 | X | X | X |
| <i>Rynchanthera graniflora</i> | Ampla | Mésico | 1334 | X | | |

Referências bibliográficas

- Ackerly DD. 2004. Adaptation, niche conservatism, and convergence: comparative studies of leaf evolution in the California Chaparral. *The American Naturalist* 163 (5): 654-71.
- Ackerly DD. 2003. Community assembly, niche conservatism, and adaptive evolution in changing environments. *International Journal of Plant Sciences* 164 (suppl.): S165–S184.
- Ackerly DD, Dudley SA, Sultan SE. 2000. The Evolution of Plant Ecophysiological Traits: Recent Advances and Future Directions. *BioScience* 979 (11): 979-995.
- Barbosa NU, Fernandes GW, Carneiro AAM, Junior LAC. 2010. Distribution of non-native invasive species and soil properties in proximity to paved roads and unpaved roads in a quartzitic mountainous grassland of southeastern Brazil (rupestrian fields). *Biological Invasions* 12: 3745-3755.
- Baroloto C, Hardy O, Paine CET, et al. 2012. Using functional traits and phylogenetic trees to examine the assembly of tropical tree communities. *Journal of Ecology* 100: 690-701.
- Batalha MA, Silva IA, Cianciaruso MV. 2011. Trait diversity on the phylogeny of cerrado woody species. *Oikos* 120: 1741-1751.
- Conceição AA, Pirani JR. 2005. Delimitação de habitats em campos rupestres na Chapada Diamantina: substratos, composição florística e aspectos estruturais. *Bol. Bot. Univ. São Paulo* 23: 85-111.
- Cornwell WK, Ackerly DD. 2009. Community assembly and shifts in plant trait distributions across an environmental gradient in coastal California. *Ecological Monographs* 79: 109-126.
- Cornwell WK, Schwilk DW, Ackerly DD. 2006. A trait-based test for habitat filtering: Convex hull volume. *Ecology* 87(6): 1465-1471.
- Díaz S, Hodgson JG, Thompson K, Cabido M, Cornelissen JHC. et al. 2004. The plant traits that drive ecosystems: Evidence from three continents. *Journal of Vegetation Science* 15: 295-304.

- Fernandes GW, Barbosa NPU, Negreiros D, Paglia AP. 2014. Challenges for the conservation of vanishing megadiverse rupestrian grasslands. *Natureza & Conservação* 12: 162-165.
- Gallagher RV, Leishman MR 2012. A global analysis of trait variation and evolution in climbing plants. *Journal of Biogeography* 39: 1757-1771.
- Giulietti AM, Pirani JR & Harley RM. 1997. Espinhaço range region, eastern Brazil. *In*: Davis SD, Heywood VH, Herrera-MacBryde O, Villa-Lobos J, Hamilton AC. (eds.). *Centres of plant diversity: a guide and strategy for their conservation*. Vol.3. WWF/IUCN, Cambridge. Pp. 397-404.
- Götzenberger L, de Bello F, Brathen KA, Davison J, Dubuis A. et al. 2012. Ecological assembly rules in plant communities – approaches, patterns and prospects. *Biological Reviews* 87: 111-127.
- Hilário RR, Castro SAB, Ker FTO, Fernandes GW. 2011. Unexpeded Effects of Pigeon-Peas (*Cajanus cajan*) in the restoration of Rupestrian Fields. *Planta Daninha* 29:717-723.
- Kraft NJB, Valencia R, Ackerly DD. 2008. Functional traits and niche-based tree community assembly in an Amazonian forest. *Science* 322: 580-582.
- McGill BJ, Enquist BJ, Weiher E, Westoby M. 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology & Evolution* 21: 178-185.
- Silveira FAO, Negreiros D, Barbosa NPU, Buisson E, Carmo FF. et al. 2015. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. *Plant Soil* doi 10.1007/s11104-015-2637-8.
- Silveira FAO, Ribeiro RC, Oliveira DMT, Fernandes GW, Lemos-Filho JP. 2012. Evolution of physiological dormancy multiple times in Melastomataceae from Neotropical montane vegetation. *Seed Science Research* 22: 37-44.
- Stubbs WJ, Wilson JB. 2004. Evidence for limiting similarity in a sand dune community. *Journal of Ecology* 92: 557-567.
- Webb CT, Hoeting JA, Ames GM, Pyne MI, PoffNL. 2010. A structured and dynamic framework to advance traits-based theory and prediction in ecology. *Ecology Letters*, 13: 267-283.

- Westoby M, Wright IJ. 2006. Land-plant ecology on the basis of functional traits. *Trends in Ecology and Evolution* 21: 261-268.
- Wiens JJ, Graham CH. 2005. Niche conservatism: integrating evolution, ecology and conservation biology. *Ann. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 36: 519-539.
- Weiher E, Keddy PA. 1995. The assembly of experimental wetland plant communities. *Oikos* 73: 323-335.
- Wright IJ, Reich P, Westoby M, Ackerly D, Zdravko B. et al. 2004. The world-wide leaf economics spectrum. *Nature* 428: 821-827
- Zheng L, Ives AR, Garland T, Larget BR, Yu Y, et al. 2009. New multivariate tests for phylogenetic signal and trait correlations applied to ecophysiological phenotypes of nine *Manglietia* species. *Functional Ecology* 23: 1059-1069.

Capítulo 1

Traços funcionais foliares em Melastomataceae dos Campos Rupestres são marcados por sinal filogenético

Traços funcionais foliares em Melastomataceae dos Campos Rupestres são marcados por sinal filogenético

Resumo

Inúmeros processos conduzem à evolução de traços funcionais foliares em espécies localizadas nos campos rupestres, caracterizados por sua enorme riqueza de espécies e endemismos. Avaliamos a evolução de traços funcionais foliares em 30 espécies de Melastomataceae localizadas em habitats méxico e xérico no Campo Rupestre relacionados com a eficiência na captura de luz, economia de água e conservação de recursos. Há indicações de que filtros ambientais e interações competitivas sejam responsáveis pela evolução dos traços funcionais foliares nas espécies avaliadas e esperamos encontrar sinal filogenético em espécies mais relacionadas com indícios de possível conservação de nicho. Entre os traços foliares avaliados estão a área foliar, área foliar específica, comprimento do pecíolo, espessura do mesófilo e densidade de estômatos. Utilizamos o método de contrastes independentes de filogenia e decomposição da diversidade ao longo dos nós para avaliar a evolução de traços foliares em um contexto filogenético. Observamos uma clara separação entre espécies endêmicas e de ampla distribuição e diferenças entre espécies de habitats méxico e xérico. Encontramos também inúmeras convergências especialmente em Microlicieae e Melastomeae, enquanto divergências foram observadas em Miconieae. Acreditamos que convergências seja resultado da ação de filtros ambientais, enquanto que interações competitivas talvez estejam levando à divergência em traços foliares avaliados especialmente em espécies localizadas em habitats méxicos. Observamos sinal filogenético para a maioria dos traços avaliados, o que nos dá indícios de possível conservação de nicho ao longo da evolução de Melastomataceae. A decomposição da diversidade nos nós revelou maior diversidade em direção ao nó da árvore,

especialmente no nó em que Miconieae diverge de Melastomeae e Microlicieae. Possível conservação de nicho nas espécies avaliadas em função do sinal filogenético observado pode ser crucial no atual cenário de mudanças climáticas, no qual espécies dos campos rupestres podem não serem lábeis o suficiente para se adaptar à rápidas mudanças ambientais.

Palavras chave: convergência, divergência, espécies endêmicas, micro-habitats, afloramento quartzítico, Serra do Cipó.

Functional traits of leaves of plants of the family Melastomataceae in campos rupestres are marked by phylogenetic signal indicating possible niche conservation ?

Abstract

Numerous processes drive the evolution of functional traits of leaves of plant species of Campos Rupestres plant species, which are characterized by enormous species richness and endemism. We evaluated the evolution of leaf functional traits of leaves related to the efficiency of capturing light, water economy and the conservation of resources of 30 species of Melastomataceae of xeric and mesic habitats from campos rupestres. We hypothesized that environmental filters and competitive interactions are responsible for the evolution of the functional traits of leaves of the studied species, and we expect to find phylogenetic signal in closely related species indicating possible niche conservatism. Among the leaf traits evaluated were leaf area, specific leaf area, length of petiole, thickness of mesophyll and stomatal density. We used the method of phylogenetic independent contrasts and decomposition of diversity among nodes to evaluate leaf characteristics in a phylogenetic context. We observed a clear separation between endemic and widely distributed species, and differences between species of mesic and xeric habitats. We also found numerous convergences, especially in Microlicieae and Melastomeae, while divergences were observed in Miconieae. We believe that the convergences in leaf characteristics are a result of the action of environmental filters while divergences are due to competitive interactions, especially in species located in mesic habitats. We observed phylogenetic signal for the majority of evaluated traits, suggesting niche conservation throughout the evolution of Melastomataceae. The decomposition of diversity among the nodes revealed greater diversity in the direction of the root of the tree, especially the node where Miconieae

diverges from Melastomeae and Microlicieae. The possibility of niche conservation as a function of phylogenetic signal in the species evaluated can be crucial in the current scenario of climate change, since these species of campos rupestres may not be sufficiently labile to adapt to rapid environmental changes.

Key words: convergence, divergence, endemic species, microhabitats, quartzitic outcrop, Serra do Cipó.

Introdução

Traços funcionais são fundamentais para o entendimento dos mecanismos que estruturam comunidades de plantas, já que podem estar relacionados com adaptação ao ambiente de ocorrência (McGill *et al.* 2006; Götzenberger *et al.* 2012). Traços ligados à aquisição e utilização de recursos, alocação de biomassa e crescimento podem influenciar o *fitness* das espécies (Reich *et al.* 2003; Violle *et al.* 2007). Como exemplo, podemos citar características funcionais foliares tais como área foliar, área foliar específica (AFE) e características anatômicas foliares como espessura do mesófilo, densidade estomática que estão diretamente relacionadas com a captura de luz e eficiência no uso da água e conservação de recursos (Niinemets & Fleck 2002; Wright *et al.* 2004; Poorter 2009).

É esperado que espécies ecologicamente similares apresentem traços funcionais similares (Ackerly and Cornwell 2007), e a similaridade morfológica entre espécies filogeneticamente distantes ocupando um mesmo tipo de habitat pode indicar a ocorrência de evolução convergente (Ackerly *et al.* 2000; Webb 2000). Por outro lado, é esperado maior divergência em traços quanto maior for a distância filogenética entre as espécies (Wiens *et al.* 2010). Também pode ser esperado que espécies filogeneticamente próximas sejam fenotipicamente mais semelhantes entre si do que espécies filogeneticamente distantes, apontando para ocorrência do sinal filogenético (Blomberg *et al.* 2003; Losos 2008). Além disso, é possível que traços sejam retidos ao longo do tempo em espécies relacionadas levando à existência conservação de nicho (Losos 2008; Wiens *et al.* 2010). A detecção de um ou mais desses eventos dependerá da escala filogenética considerada, dos traços avaliados e também de quais processos atuam nas regras de montagem das comunidades.

Filtros ambientais e competição por recursos são alguns dos processos responsáveis pela estruturação de comunidade de plantas, especialmente, em comunidades montadas com base em traços funcionais (Weiher & Keddy 1995; Chesson 2000; Cornwell *et al.* 2006; Jung *et al.* 2010). A baixa variabilidade nos valores de traços funcionais sugere forte efeito de filtros ambientais (Cornwell *et al.* 2006). Em contraste, a exclusão competitiva prediz que espécies com similar uso dos recursos não podem coexistir, resultando em padrões de alta dispersão de traços funcionais (Kraft *et al.* 2008; Cornwell & Ackerly 2009). Entretanto, as espécies também podem competir igualmente por ter similar capacidade na captura e uso dos recursos, o que levaria à similaridade nos traços funcionais resultando em baixa variabilidade desses (Grime 2006). Além disso, a convergência também pode ser resultante da exclusão de espécies que possuem características funcionais associadas com baixa capacidade competitiva (Mayfield & Levine 2010).

Os filtros ambientais sugerem que espécies de um *pool* regional só podem fazer parte de uma comunidade local se possuem traços funcionais que as permitam superar condições e restrições ambientais locais, tais como, seca, frio e deficiência de nutrientes (Weiher & Keddy 1995). Filtros ambientais operam em traços e eliminam os que não são ajustados para o ambiente, de modo que as espécies que compõem a comunidade são aquelas que sobrevivem aos filtros (Webb *et al.* 2002; Mayfield *et al.* 2009; Helsen *et al.* 2012).

O campo rupestre é uma vegetação montanhosa caracterizada por apresentar um mosaico de vegetação que se estabelece em solos derivados de rochas extremamente antigas de origem quartzítica (Oliveira *et al.* 2015; Silveira *et al.* 2015). O campo rupestre ocorre de forma disjunta, separados por vales e bacias, levando ao isolamento geográfico de populações, resultando em uma flora com um dos maiores índices de

endemismos (Giulietti & Pirani 1988), e podem ser caracterizados como paisagens antigas, inférteis e climaticamente estáveis (Hopper 2009; Silveira *et al.* 2015). A heterogeneidade geomorfológica do campo rupestre resulta em uma grande diversidade de microhabitats (Giulietti *et al.* 1997; Conceição & Pirani 2005) que devem estar relacionados à diferentes intensidades de filtros ambientais. Dessa forma, os campos rupestres podem ser considerados um sistema adequado para testar hipóteses relacionadas à evolução de traços funcionais foliares. Por essas razões, avaliamos aqui a diversidade de traços funcionais foliares em 30 espécies de Melastomataceae, utilizando o método de contrastes independente de filogenia e decomposição da diversidade nos nós de uma árvore filogenética. Escolhemos essa família por ser dominante na região Neotropical, e por ser a quarta família mais diversificada nos campos rupestres, ocupando uma grande diversidade de habitats e de padrões de distribuição geográfica (Silveira *et al.* 2013, 2015).

Nesse trabalho nós temos quatro questões sobre a diversidade de traços funcionais foliares em espécies de Melastomataceae de campos rupestres: 1) traços foliares podem ser significativamente diferentes de acordo com o hábitat de ocorrência (mésico e xérico), e diferentes entre espécies endêmicas e ampla distribuição? Diferenças entre espécies refletem ajustes para condições ambientais atuais prevalentes nos distintos habitats ou podem ser adaptações ocorridas no passado quando as espécies divergiram? 2) os filtros ambientais nos campos rupestres determinam os padrões de diversidade de traços? Esperamos que os filtros ambientais nos campos rupestres fossem responsáveis pela ocorrência de convergências e divergências nos traço funcionais resultado da radiação adaptativa para diferentes habitats; 3) espécies filogeneticamente mais relacionadas apresentam maior similaridade nos traços funcionais? Esperamos encontrar sinal filogenético na maioria dos traços foliares, ou

seja, espécies mais relacionadas apresentam maior similaridade nos traços segundo o movimento Browniano podendo sugerir possível conservação de nicho; 4) A diversificação dos traços funcionais é ancestral (ocorrendo na raiz da árvore filogenética), ou é fruto de eventos recentes (ocorrendo nos terminais da árvore filogenética)? Assimetria da diversidade de traços funcionais foliares em direção a um único nó é esperada se a taxa de evolução da característica é alta em um único ramo da árvore, ou se a taxa de evolução foi maior no passado, possibilitando maior diversidade de característica no nó da raiz.

Material e Métodos

Área de estudo

Esse trabalho foi desenvolvido na Serra do Cipó, localizada na porção sul da Cadeia do Espinhaço, sudeste do Brasil. No campo rupestre, as plantas evoluíram em um ambiente onde estão expostas à alta luminosidade, baixa disponibilidade de nutrientes, solos ácidos e superficiais, além da variação sazonal na disponibilidade de água no solo (Silveira *et al.* 2015). Embora as condições ambientais mencionadas sejam prevalentes no campo rupestre, manchas de vegetação florestal com características mesofíticas também são encontradas nas matas de galerias ao longo de córregos. O clima regional é Cwb com verões chuvosos e invernos secos com uma precipitação média anual de 1500 mm (Alvares *et al.* 2014).

O estudo foi realizado em diversos pontos em áreas localizadas no Parque Nacional da Serra do Cipó e APA (Área de Proteção Ambiental) Morro da Pedreira. Esses pontos foram classificados aqui como habitats xéricos: áreas de afloramentos rochosos, com solo raso, e alta luminosidade, onde as plantas desenvolvem-se diretamente sobre as rochas ou em microsítios onde há condições para fixação das

raízes (Figura 1A–C da Introdução geral). Embora esses habitats recebam luz na maior parte do dia, é comum em áreas de maior altitude a presença de nuvens em várias horas do dia, de forma que possa ocorrer uma maior flutuação na temperatura e umidade do ar ao longo do dia nessas áreas. Os habitats méxicos são áreas localizadas ao longo de córregos com densa vegetação e variação na disponibilidade de luz resultado do sombreamento causado pelas espécies arbóreas presentes nesses ambientes; e também campos gramíneos onde o solo é arenoso e mais profundo, e as espécies também estão expostas à alta luminosidade (Figura 1D-F da Introdução geral).

Para caracterizar a umidade do solo nos habitats méxicos e xéricos foi empregado um medidor FieldScout TDR 100 (Spectrum Technologies Inc., USA). Em cada habitat durante todos os meses entre março de 2013 e setembro de 2014 foram efetuadas cinco medidas utilizando-se pinos de 12 cm de comprimento (Figura 4 da Introdução Geral).

Coleta de dados de traços funcionais foliares

Foram avaliados 15 traços funcionais relacionados à eficiência na captura de luz, economia de água e conservação de recursos (Pérez-Harguindeguy *et al.* 2013; Tabela 2) em 30 espécies de Melastomataceae (Tabela 1, Introdução geral). Em cada espécie foram selecionados dez indivíduos com altura semelhante e coletados quatro metâmeros (entre-nó, pecíolo e folha) de cada indivíduo no terceiro entre-nó, garantindo que suas folhas já estivessem completamente expandidas. Os metâmeros foram fotografados com uma câmera digital Nikon com o uso de uma escala, levados em estufa para secagem a 70°C até atingir peso constante. Foi obtida a massa seca total dos metâmeros e separadamente para cada um de seus componentes (folha, pecíolo e entre-nó). O comprimento do pecíolo, entre-nó e a área foliar foram obtidos com imagem fotográfica

calibrada com escala conhecida, usando o programa Sigma Scan Pro5 SPSS Inc. Com os valores de área foliar e peso seco das folhas, foram obtidos a Área Foliar (AF), Razão de Área Foliar por metâmero (RAF_m) e a Área Foliar Específica (AFE) (Tabela 2).

Para a obtenção dos traços anatômicos foram utilizadas folhas expandidas, localizadas no terceiro entre-nó, de cinco indivíduos por espécie, sendo três folhas por indivíduo. As folhas foram fixadas em FAA 50% e armazenadas em álcool 70% (Johansen 1940). Fragmentos da região mediana da folha foram incluídos em Paraplast®, seccionados em micrótomo rotativo, e corados com Safranina e Azul de Astra (Kraus & Arduin 1997). Lâminas foram montadas em gelatina glicerinada e fotografadas em microscópio Zeiss modelo Primo Star com câmera fotográfica Canon modelo A650. Foram estimadas as espessuras da epiderme na face adaxial e do tecido clorofiliano (parênquima paliádico e lacunoso, (Tabela 2) através do software ImagePro-Plus 4.1. Para a determinação da densidade estomática, foi realizada a dissociação de epiderme de fragmentos da região mediana da folha utilizando-se hipoclorito 50%. As epidermes foram coradas com Safranina e Azul de Astra 10%, e montadas entre lâmina e lamínulas sendo considerados 30 campos por indivíduos, e cinco indivíduos por espécie.

Análises estatísticas e ecofilogenéticas

Foi realizada uma análise de componentes principais para verificar a relação entre os traços funcionais foliares avaliados e as espécies estudadas, utilizando a transformação quando necessário. Avaliamos se os traços funcionais foliares diferiam entre os habitats méxicos e xéricos, e em relação à distribuição geográfica das espécies, através da GLM (General Linear Model) no ambiente R (R Development Core Team 2014). Os traços funcionais foliares foram as variáveis dependentes, enquanto que os habitats e a distribuição geográfica foram as variáveis independentes.

Para investigar a diversidade dos traços funcionais foliares foi construída uma superárvore ultramétrica no Phylomatic (<http://www.phylodiversity.net/phyloomatic/>). As relações entre espécies foram melhoradas e politomias foram resolvidas com base nas atuais filogenias publicadas (Renner *et al.* 2001; Fristsch *et al.* 2004; Goldenberg *et al.* 2008; Michelangeli *et al.* 2008, 2013) no Mesquite (Maddison & Maddison 2008). Nós com estimativas de datação conhecidas foram utilizados para calibração dos tamanhos dos ramos através do algoritmo BLADJ do Phylocom (Webb *et al.* 2006). Foram calculados os contrastes independentes de filogenia (PIC's) para cada um dos traços foliares no Analysis of Traits do Phylocom (Webb *et al.* 2006). Para todos os nós, o tamanho do contraste é o valor estimado do traço em um nó filho, menos o valor estimado do segundo nó filho, dividido pela raiz quadrada do comprimento total entre os dois nós (Felsenstein 1985). Convergências e divergências nos nós foram calculadas para cada traço individualmente (Moles *et al.* 2005). Também foi calculado o sinal filogenético usando o teste K de Blomberg com 100.000 randomizações (Blomberg *et al.* 2003; Münkemüller *et al.* 2012), usando o pacote 'picante' (Kembel *et al.* 2014) no ambiente R (R Development Core Team, 2014).

Para investigar a partição da diversidade ao longo dos nós da árvore filogenética foi calculado o índice de entropia quadrática (diversidade de RAO) para cada traço avaliado (Pavoine *et al.* 2010). A contribuição para a diversidade em um nó em particular é igual à diversidade de traços entre espécies do grupo descendentes desse nó (Pavoine *et al.* 2010). Primeiramente foi gerada uma distância multivariada baseada em todos os traços simultaneamente de acordo com Pavoine *et al.* 2009, e também foi gerada uma distância baseada em cada traço separadamente. Nós avaliamos se a diversidade de traços está contida em um único nó (single-nodes skewness test –SN), ou se a diversidade está contida em alguns nós (few-nodes skewness test – SN). Também

avaliamos se a diversidade de traços está mais concentrada em direção à raiz da árvore ou mais em direção aos nós terminais (Root/tips skewness test – RT). Todos esses testes foram feitos com 1000 permutações utilizando também o ambiente R com o uso da função ‘rtest.decdiv’ desenvolvida por Pavoine *et al.* (2010).

Tabela 1. Espécies avaliadas, seu respectivo habitat, distribuição geográfica e altitude no Campo Rupestre, Serra do Cipó-MG

| Tribo | Espécies | Habitat | Distribuição | Altitude (m) |
|------------------------------|-----------------------------------|-------------------------|---------------------|---------------------|
| Melastomeae | <i>Macairea radula</i> | Mésico | Ampla | 995 |
| | <i>Marcetia taxifolia</i> | Xérico | Endêmica | 996 |
| | <i>Comolia sertularia</i> | Xérico | Endêmica | 1334 |
| | <i>Comolia stenodon</i> | Mésico | Endêmica | 1295 |
| | <i>Tibouchina candolleana</i> | Mésico | Ampla | 1224 |
| | <i>Tibouchina heteromalla</i> | Mésico | Ampla | 1379 |
| | <i>Tibouchina cardinalis</i> | Xérico | Endêmica | 1247 |
| | Miconieae | <i>Miconia albicans</i> | Xérico | Ampla |
| <i>Miconia corallina</i> | | Xérico | Ampla | 1247 |
| <i>Miconia rimalis</i> | | Xérico | Ampla | 1247 |
| <i>Miconia cipoensis</i> | | Xérico | Endêmica | 1247 |
| <i>Miconia alborufescens</i> | | Xérico | Endêmica | 1037 |
| <i>Miconia chamissois</i> | | Mésico | Ampla | 1000 |
| <i>Miconia theaezans</i> | | Mésico | Ampla | 1224 |
| <i>Miconia stenostachya</i> | | Mésico | Ampla | 1000 |
| <i>Clidemia urceolata</i> | | Mésico | Ampla | 1000 |
| <i>Leandra aurea</i> | | Xérico | Ampla | 1247 |
| Microlicieae | <i>Lavoisiera campos-portoana</i> | Xérico | Endêmica | 1247 |
| | <i>Lavoisiera confertiflora</i> | Mésico | Endêmica | 1247 |
| | <i>Lavoisiera caryophyllea</i> | Mésico | Endêmica | 995 |
| | <i>Lavoisiera cordata</i> | Xérico | Endêmica | 1037 |
| | <i>Lavoisiera glandulifera</i> | Xérico | Endêmica | 1295 |
| | <i>Lavoisiera imbricata</i> | Mésico | Endêmica | 1295 |
| | <i>Microlicia fulva</i> | Mésico | Ampla | 1295 |
| | <i>Microlicia graveolens</i> | Mésico | Endêmica | 1295 |
| | <i>Microlicia tetrasticha</i> | Mésico | Endêmica | 1295 |
| | <i>Microlicia avicularis</i> | Xérico | Endêmica | 1334 |
| | <i>Trembleya parviflora</i> | Mésico | Endêmica | 1295 |
| | <i>Trembleya laniflora</i> | Xérico | Endêmica | 1334 |
| | <i>Rynchanthera grandiflora</i> | Mésico | Ampla | 1334 |

Tabela 2. Traços funcionais foliares avaliados, descrição dos traços e referências.

| Traços Foliares | Descrição | Referências |
|--|--|---|
| Massa seca do Metâmero (mg) | A plasticidade da planta depende das respostas plásticas e das características individuais dos metâmeros. | Dong <i>et al.</i> (1996) |
| Área Foliar Específica– AFE (cm ² g ⁻¹) Área foliar por unidade de massa seca | Tem relação direta na assimilação de carbono, e balanço de energia refletindo a alocação de biomassa para interceptação de luz, sendo, portanto, um traço de economia da folha. | Westoby <i>et al.</i> (2000); Niinemets (2002); Wright <i>et al.</i> (2004) |
| Área Foliar (cm ²) e massa seca da folha (mg) | A Área Foliar varia amplamente entre os ambientes e ecossistemas, reflete o investimento de biomassa na captura de luz, além de estar relacionada com a SLA. É um importante traço a ser avaliado em nível de comunidade. | Westoby <i>et al.</i> (2000) |
| Razão de Área Foliar por Metâmero - RAFm (cm ² g ⁻¹) | Reflete o investimento em biomassa no nível do metâmero em exposição da folha e captura de luz. | Poorter (2009) |
| Comprimento do Pecíolo (cm) e Comprimento do entre-nó (cm) | São importantes na posição espacial das folhas. Há evidências de que os pecíolos sejam mais rígidos sob maior irradiância como resultado de maiores investimentos em biomassa para apoiar o tecido. | Poorter (2009); Niinemets (1998); Niinemets & Fleck, 2002 |
| Espessura do mesofilo (µm) | Proteção contra herbivoria e redução de sua digestibilidade; e conservação de água e nutrientes. | Turner (1994); Marques <i>et al.</i> (2000); Rossato & Kolb (2010) |
| Espessura da Epiderme (µm) | Proteção contra UV-B e conservação da água. | Turner (1994) |
| Hipoderme (µm) | Estoque de água na folha, especialmente em ambientes secos. | Turner (1994) |
| Posição do estômato - adaxial e abaxial, densidade estomática (nº por mm ²) | Plantas de habitats xéricos apresentam em geral maior número de estômatos por unidade de área. Estômatos em ambas as faces aumenta a condutância do CO ₂ na folha, característica presente em espécies de habitats xéricos. | Fahn & Cutler (1992) Elias <i>et al.</i> (2003) |
| Parênquima Paliçádico e Lacunoso (µm) | Maior desenvolvimento do parênquima paliçádico e diminuição do parênquima lacunoso e do espaço intercelular; parênquima paliçádico espesso e compacto provem um eficiente sistema na limitação da perda de água em ambientes com pouca água ou durante períodos de seca; | Marques <i>et al.</i> (2000); Rossato & Kolb (2010); Fahn and Cutler (1992) |
| Parênquima Paliçádico/Parênquima Lacunoso - PP/PL | Alta razão entre PP/PL sugere arranjo compacto de células aumentando a superfície de área do mesofilo facilitando a absorção de CO ₂ , mantendo a fotossíntese sob condição de seca. | Chartzoulakis <i>et al.</i> 2000. |

Resultados

A análise de componentes principais mostrou que não houve uma clara separação entre espécies que ocorrem nos ambientes xéricos e méxicos (Figura 2A). Espécies de Microlicieae foram associadas positivamente com densidade de estômatos na face adaxial, e negativamente com a área foliar, massa foliar, comprimento do pecíolo, e densidade abaxial de estômatos. Por outro lado, espécies de Miconieae foram positivamente relacionadas com área foliar, massa seca do metâmero e da folha, comprimento do entre-nó e densidade de estômatos na face abaxial. Espécies de Melastomeae tiveram uma posição intermediária, porém espécies de ambiente xérico estiveram mais próximas de Microlicieae enquanto que as de ambiente méxico foram mais próximas às Miconieae (Figura 2A). O PCA2 não contribuiu para a separação das espécies entre tribos, ou microambientes. Em relação à distribuição geográfica, o PC1 separou claramente as espécies endêmicas e de ampla distribuição geográfica (Figura 2B). As espécies endêmicas foram positivamente associadas com densidade de estômatos na face adaxial, enquanto que espécies de distribuição ampla foram positivamente relacionados com área foliar, massa seca do metâmero e da folha, comprimento do entre-nó e densidade de estômatos na face abaxial (Figura 2B). O PCA2 não contribuiu para a separação de espécies com diferentes distribuições geográficas. Os dois primeiros eixos explicaram 57.8% da variação total.

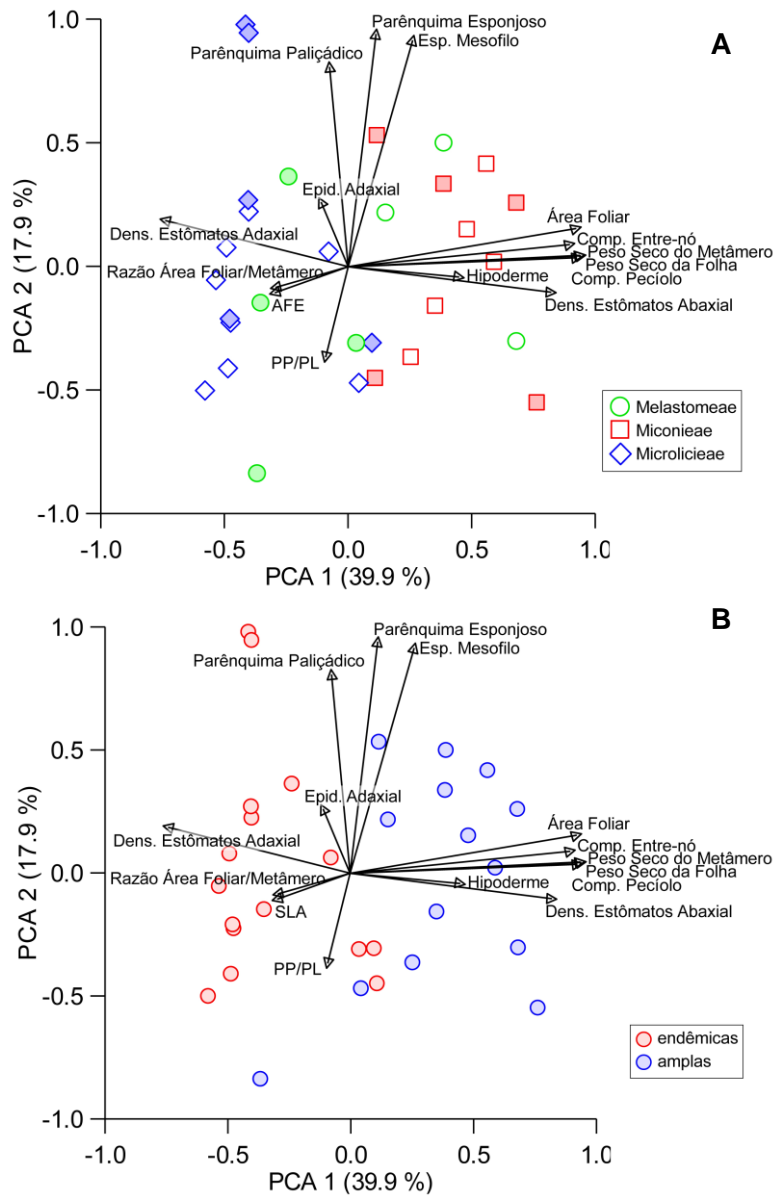


Figura 2. Análise de componentes principais (PCA) para 30 espécies de Melastomataceae de campo rupestre, em relação às tribos avaliadas, sendo símbolos cheios para espécies de habitat xérico e símbolos vazios para espécies de habitat mésicos (A) e distribuição geográfica das espécies (B).

Dos quinze traços avaliados, sete foram significativos entre espécies de diferentes habitats (Tabela 3). No ambiente méxico, as espécies apresentaram maiores valores de comprimento do pecíolo, maior AFE, razão de área foliar/metâmero e espessura da hipoderme. No ambiente xérico, as espécies apresentaram maior espessura da epiderme adaxial, do parênquima paliçádico e a razão parênquima paliçádico/lacunoso.

Das quinze variáveis, apenas quatro não foram estatisticamente significativas entre espécies endêmicas e de ampla distribuição. Conforme esperado, a área foliar, massa seca do metâmero, massa seca da folha, comprimento do entre-nó e do pecíolo, espessura do mesófilo, da hipoderme e do parênquima lacunoso e densidade de estômatos na face abaxial foram significativamente maiores em espécies de ampla distribuição, enquanto que as espécies endêmicas apresentaram maior razão parênquima paliçádico/lacunoso, maior espessura do mesofilo, e maior densidade adaxial de estômatos. Nenhuma das espécies de ampla distribuição apresentou estômatos na face adaxial da epiderme (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios e desvio-padrão para as traços foliares avaliados, em espécies endêmicas e de ampla distribuição, localizadas em habitat méxico e xérico no campo rupestre. ANOVA one-way; p- valor ***< 0.001, **< 0.01, *<0.05. ns (não significativo)

| Traços Foliares | Habitat | | | Distribuição | | |
|---|-----------|-------------|---------|--------------|-------------|---------|
| | Mésico | Xérico | p-valor | Endêmica | Ampla | p-valor |
| Área Foliar (log+1; cm ²) | 12,93±1,2 | 10,6±1,0 | ns | 4,3±0,7 | 21,7±1,0 | *** |
| Massa seca do Metâmero (log;mg) | 0,44±0,04 | 0,58±0,06 | ns | 0,23±0,04 | 0,88±0,08 | *** |
| Massa seca da folha (log+1mg) | 0,38±0,04 | 0,48±0,05 | ns | 0,03±0,006 | 0,091±0,005 | *** |
| Comp. do entre-nó (log mm) | 1,44±0,09 | 1,46±0,11 | ns | 0,95±0,08 | 2,1±0,09 | *** |
| Comp. do pecíolo (mm) | 0,69±0,03 | 0,51±0,05 | *** | 0,19±0,03 | 1,14±0,04 | *** |
| Área foliar específica (raiz; cm ² g ⁻¹) | 44,4±1,8 | 25,7±0,95 | *** | 34,60±21,3 | 35,67±21 | ns |
| Razão de área foliar/Met. (raiz) | 35,8±1,5 | 21±0,7 | *** | 27,9±17 | 29±17 | ns |
| Espessura do mesofilo (raiz; µm) | 165,13±71 | 169,53±71,2 | ns | 185,2±8,0 | 150,2±7,7 | *** |
| Espessura da Epiderme adaxial (log+1;µm) | 15,1±0,7 | 28,3±2,3 | *** | 22±16,7 | 21,3±16 | ns |
| Espessura da Hipoderme (log; µm) | 13,8±4,3 | 1,0±0,5 | ** | 2,58±2 | 14,7±4,2 | *** |
| Espessura do Parênquima Palicádico - PP (log; µm) | 86±4,6 | 108,8±5,4 | ** | 98,4±5,0 | 94,7±5,4 | ns |
| Espessura do Parênquima Lacunoso - PL (raiz; µm) | 59±3,5 | 62,5±4,5 | ns | 54,15±4,3 | 69,5±3,8 | *** |

| | | | | | | |
|---|----------|-----------|-----|------------|-----------|-----|
| PP/PL | 1,54±078 | 0,50±0,01 | *** | 2,15±0,97 | 1,66±1,4 | *** |
| Densidade de estômatos abaxial (raiz; mm ²) | 997,7±60 | 880,5±59 | ns | 660,8±45 | 1295±51,3 | *** |
| Densidade de estômatos adaxial (log+1; gmm ²) | 173±33 | 112,5±24 | ns | 252,3±32,5 | 0b | *** |

Nós observamos divergências e convergências para a maioria dos traços funcionais foliares avaliados, com predominância de convergências em Microlicieae e Melastomeae, e de divergências em Miconieae (Figura 3). O padrão de divergência em Miconieae e convergências em Microlicieae e Melastomeae foram bastante consistente para área foliar, massa seca da folha e do metâmero, comprimento do entre-nó e do pecíolo, e densidade de estômatos na face abaxial (Figura 3A-E, H). Para AFE e razão de área foliar/metâmero foram observadas divergências em Microlicieae e convergências em Melastomeae (Figura 3F-G, respectivamente). Detectamos convergências na densidade de estômatos na face adaxial, apenas em espécies de Microlicieae (Figura 3I) e divergências apenas em Melastomeae para epiderme adaxial da folha (Figura 3J). Para o parênquima paliçádico, parênquima lacunoso, espessura do mesofilo, razão pp/pl foi observado um único evento (convergência ou divergência) para um nó (dados não mostrados).

Apesar das convergências e divergências observadas para a maioria dos traços funcionais, sinal filogenético foi observado em nove das quinze características avaliadas (Tabela 4), com alto valor de K para comprimento do pecíolo, seguido da massa seca da folha, massa seca do metâmero, hipoderme, e área foliar (Tabela 4). Espessura da epiderme na face adaxial, comprimento do entre-nó, densidade adaxial e abaxial de estômatos também apresentaram valores de K significativos (Tabela 4).

Tabela 4. Resultado de sinal filogenético (K – Blomberg) com 100,000 aleatorizações. NS: não significativo ($p > 0,05$).

| | K | <i>p</i> |
|---|-------|----------|
| Área foliar (log+1; cm ²) | 0,754 | <0,001 |
| Massa seca do metâmero (log+1; g) | 0,977 | <0,001 |
| Massa seca da folha (log+1; g) | 0,984 | <0,001 |
| Comprimento do entre-nó (log+1; cm) | 0,698 | <0,001 |
| Comprimento do pecíolo (cm) | 1,212 | <0,001 |
| Área foliar específica ($\sqrt{\text{; cm}^2 \text{ g}^{-1}}$) | 0,156 | NS |
| Razão de área foliar/metâmero | 0,116 | NS |
| Espessura da Epiderme adaxial (log; μm) | 0,315 | 0,017 |
| Espessura da Hipoderme (log+1; μm) | 0,891 | 0,015 |
| Espessura do Parênquima paliçádico (μm) | 0,125 | NS |
| Espessura do Parênquima lacunoso ($\sqrt{\text{; } \mu\text{m}}$) | 0,194 | NS |
| Razão parênquima paliçádico/parênquima esponjoso (log+1) | 0,244 | NS |
| Espessura do mesofilo ($\sqrt{\text{; } \mu\text{m}}$) | 0,152 | NS |
| Densidade abaxial de estômatos ($\sqrt{\text{; unid. mm}^{-2}}$) | 0,301 | 0,005 |
| Densidade adaxial de estômatos (log+1;unid. mm ⁻²) | 0,644 | 0,002 |

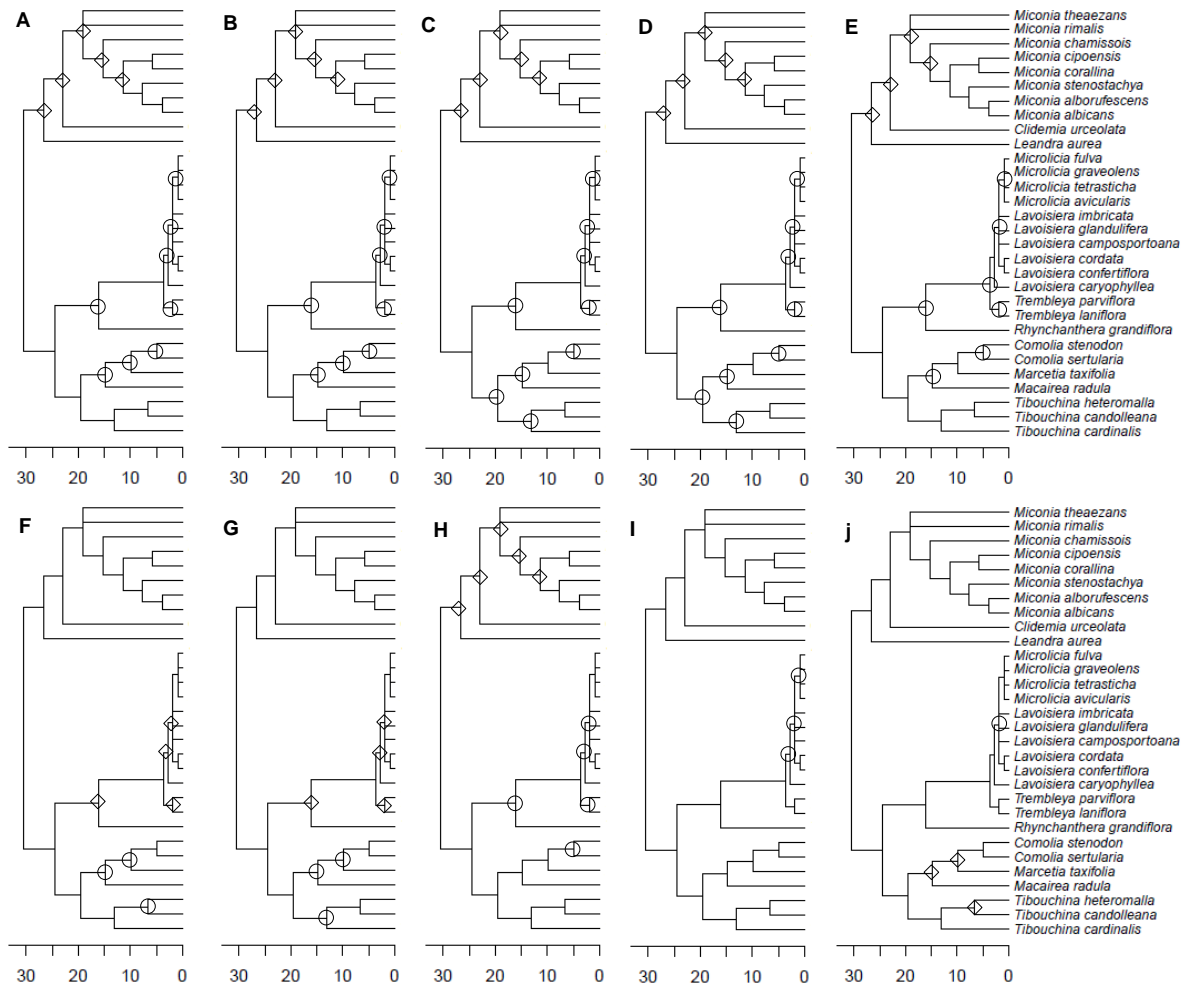


Figura 3. Árvore filogenética de 30 espécies de Melastomataceae mostrando a localização de convergências (○), divergências (◇) para área foliar (A), massa seca da folha (B), massa seca do metâmero (C), comprimento do entre-nó (D), comprimento do pecíolo (E), AFE (F), razão de área foliar/metâmero (G), densidade de estômatos abaxial (H), densidade de estômatos adaxial (I) e epiderme adaxial (J).

Em relação à decomposição da diversidade nos nós ao longo da árvore, quando avaliamos todos os traços juntos, a diversidade se mostrou concentrada em poucos nós, especialmente no nó onde ocorreu a separação entre *Miconia* do grupo Melastomeae/Microlicieae (Figura 4A). Para seis dos 15 traços avaliados o mesmo padrão foi observado, com maior diversidade localizada em um único nó, ou poucos nós, e com grande diversidade mais próxima da raiz onde ocorreu a separação de *Miconia* dos demais grupos (Figura 4B-F, D). Apenas para epiderme adaxial (Figura 4I) e densidade adaxial de estômatos (Figura 4P) maior diversidade foi observada no node Melastomeae/Microlicieae (Figura 4).

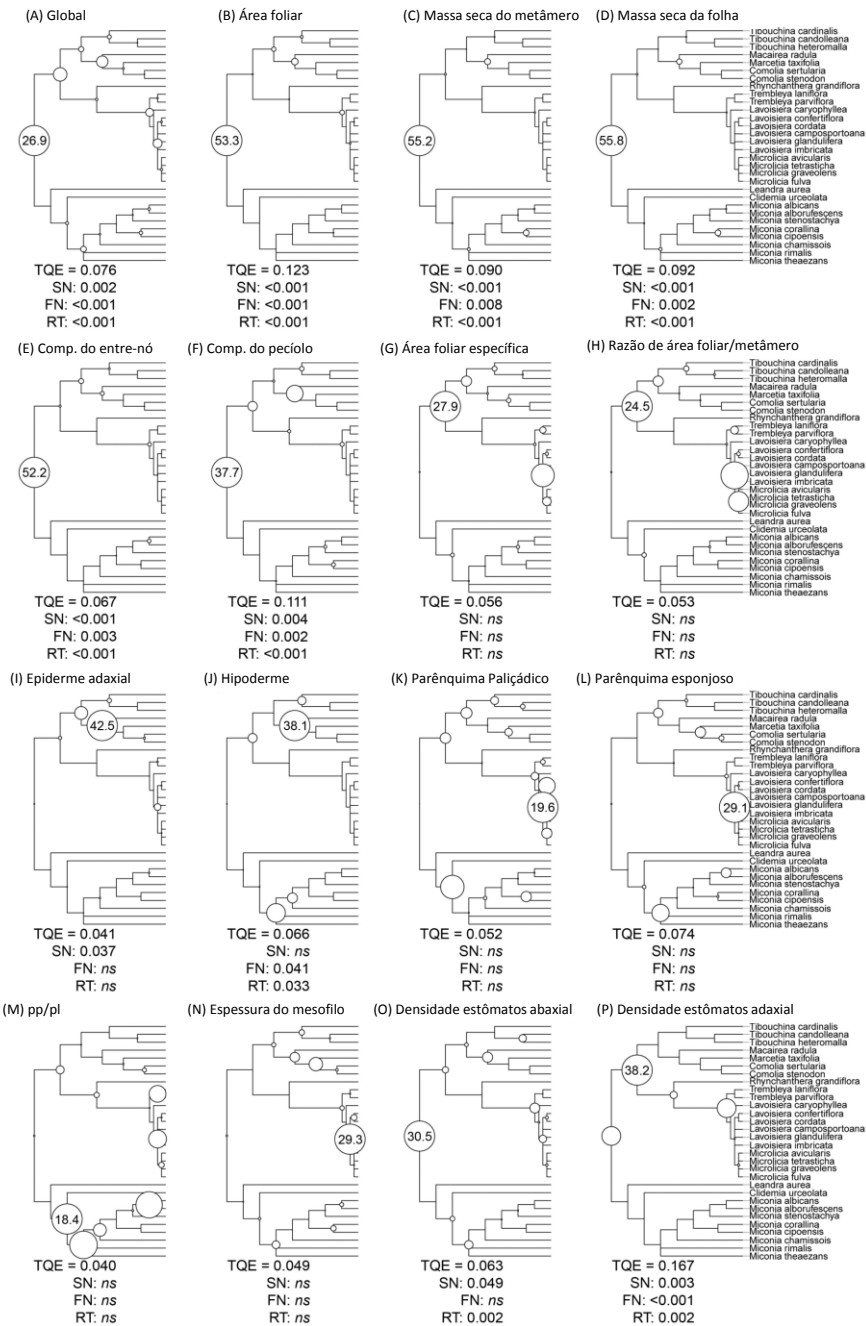


Figura 4. Decomposição da diversidade nos nós da árvore filogenética de Melastomataceae para os traços funcionais foliares. A diversidade total de cada traço é indicada pela TQE (Total Quadratic Entropy). São mostradas a significância dos testes SN (Single Nodes), FN (Few Nodes) e RT (Root/Tips) skewness test, e a % da diversidade no nó que concentra o máximo da diversidade é indicada em cada figura.

Discussão

Entender os fatores que controlam a distribuição geográfica de espécies e sua coexistência é um dos maiores desafios em ecologia de comunidades. Esta questão tem sido abordada de diversas maneiras, e uma das mais promissoras é aquela que assume que a montagem das comunidades é baseada em traços funcionais (McGill *et al.* 2006; Götzenberger *et al.* 2012). Neste estudo, demonstramos que espécies com diferentes distribuições geográficas e que colonizam diferentes habitats divergem em traços funcionais relacionados à captura de luz e economia hídrica. Além disto, fornecemos evidências de que mudanças de traços podem contribuir para a coexistência de espécies de Melastomataceae em campos rupestres.

A marcada sazonalidade climática dos campos rupestres é considerada uma importante pressão seletiva que favoreceu a evolução de traços relacionados à economia de água (Silveira *et al.* 2015). Ambientes xéricos e méxicos apresentam diferentes capacidades de retenção de água, especialmente durante a estação seca, e seria esperado que as diferentes comunidades de plantas que se estabelecem nestes diferentes ambientes evoluíssem contrastantes síndromes funcionais (Ackerly *et al.* 2000). Observamos diferenças entre os traços de espécies que ocorrem nos diferentes habitats. Ao compararmos espécies de habitat xérico vs méxico, foi possível identificar diferenças significativas em sete dos 15 traços avaliados. Possivelmente, o sinal filogenético para grande parte dos traços foliares avaliados pode indicar uma possível conservação de nicho para as espécies avaliadas. Também, a maior diversidade contida no nó da raiz para a maioria dos traços foliares avaliados aponta para a importância de eventos passados moldando a evolução de características funcionais foliares em Melastomataceae de campo rupestre.

A separação de Microlicieae das demais tribos observada no PCA se deve pela presença de estômatos na face adaxial que ocorrem quase exclusivamente em Microlicieae, e pela menor área foliar, menor comprimento do entre-nó, seu menor massa seca do metâmero, menor massa seca da folha, menor comprimento do pecíolo e menor densidade de estômatos abaxial. Traços anatômicos foliares também foram capazes de capaz de distinguir as espécies em quatro grupos funcionais em um estudo com doze taxa de Lychnophorinae dos campos rupestres (Lusa *et al.* 2014). Também, a maioria das espécies de Melastomeae e Miconieae avaliadas nesse estudo são espécies de ampla distribuição (Goldenberg *et al.* 2013), e ocupam ambientes com características méxicas (menor exposição à luz, e maior disponibilidade de água). A contrastante distribuição geográfica entre estas tribos explicaria maior área foliar, maior peso seco da folha, maior comprimento do entre-nó e pecíolo. Por outro lado, uma menor área foliar e folhas majoritariamente sésseis observada em espécies de habitat xérico são importantes, pois proporciona um auto-sombreamento nas horas mais quentes do dia (Takenaka 1994; Niinemets 1998; Falster & Westoby 2003; França *et al.* 2012). O pequeno tamanho da folha é importante para o balanço de energia e arquitetura hidráulica, com pequenas folhas geralmente observadas em condições de seca e alta exposição à luz, típico de habitats xéricos (Ackerly & Cornwell 2007).

Maiores valores para comprimento do pecíolo e do entre-nó observado especialmente em Miconieae pode ser uma adaptação das espécies a uma maior variação na disponibilidade de luz encontrada no habitat méxico, onde a maioria das espécies amostradas nessa tribo é de alguma forma sombreada por espécies arbóreas. O comprimento do entre-nó e pecíolo são importantes para o posicionamento espacial das folhas, estão relacionados ao investimento de biomassa em suporte biomecânico,

hidráulico e refletem a eficiência no investimento de biomassa para o forrageamento da luz (Brites & Valladares 2005; Poorter 2009). Além disso, folhas maiores exigem um grande investimento da massa do metâmero na construção de pecíolos maiores para apoiar suas folhas, e evitar o auto-sombreamento (Pearcy *et al.* 2005; Niinemets *et al.* 2007). Diferenças para AFE observadas entre espécies de habitat méxico e xérico condizem com outros trabalhos em que foram observados menores valores de AFE com o decréscimo da umidade e disponibilidade de nutrientes no solo (Fonseca *et al.* 2000; Niinemets & Fleck 2002).

A maioria das espécies de Miconieae são típicas de formação florestal (Goldenberg *et al.* 2013) o que poderia explicar a grande variação em características foliares relacionados com a aquisição de luz. Maior espessura do mesofilo, e maior parênquima paliçádico observado no nosso estudo são características tipicamente encontradas em espécies de habitats xéricos, e provém um eficiente sistema na limitação da perda de água em ambientes com pouca água ou durante períodos de seca (Fahn and Cutler 1992; Vogelmann 1993). Maior epiderme adaxial encontrada em espécies de habitat xérico é importante por diminuir a perda de água, ou ataque de herbívoros, e proteção contra raios UV-B (Turner 1994). A presença de estômatos na face adaxial observada apenas em Microlicieae é fundamental para a permanência em um ambiente xérico. A característica anfiestomática é comum em espécies de habitat xérico (Fahn and Cutler 1992), e a presença de estômatos em ambas as faces aumentaria a condutância do CO₂ na folha, permitindo uma troca gasosa mais eficiente quando comparada com folhas hipoestomáticas (Mott *et al.* 1982; Elias *et al.* 2003). A alta densidade estomática observada em espécies de habitat xérico é também uma característica de ambientes xéricos, estando relacionada com a reduzida disponibilidade hídrica. Mais estômatos por mm² em espécies endêmicas podem prover um melhor

controle hídrico, sobretudo, onde a água é um fator limitante em alguma época do ano (Aasamaa *et al.* 2001; Pearcy *et al.* 2006).

Diversos fatores podem contribuir para determinar o padrão de distribuição geográfico das espécies (Brown *et al.* 1996). Encontramos fortes diferenças entre espécies endêmicas e de ampla distribuição que podem ser resultado de diferentes pressões seletivas ocorridas no passado quando as espécies divergiram e colonizaram o campo rupestre. Portanto, demonstramos aqui que além de traços relacionados à biologia reprodutiva (Santos *et al.* 2012), traços funcionais também podem contribuir para a expansão da distribuição geográfica de Melastomataceae de campos rupestres.

Acreditamos que convergências observadas para a maioria dos traços foliares avaliadas em Microlicieae e Melastomeae possa ser resultado da ação de filtros ambientais moldando a evolução dos traços nessas duas tribos. Nos habitats xéricos a drástica diminuição da umidade do solo da estação chuvosa para a estação seca (Silveira *et al.* 2012) pode atuar como filtro ambiental levando à convergência em alguns traços foliares em Melastomataceae. Negreiros *et al.* (2014) também apontam para o possível papel de solos extremamente inférteis atuando como filtro ambiental. A ação de filtros ambientais leva as espécies a convergirem para uma característica ideal, tornando-as funcionalmente semelhantes (Maire *et al.* 2012). Também a exclusão competitiva pode levar ao agrupamento dos traços, similar ao que é observado quando os filtros ambientais operam quando características relativas à habilidade competitiva são filogeneticamente conservadas (Mayfield & Levine 2010). Além disso, é possível que o padrão convergente observado em Microlicieae e Melastomeae tenha relação com a filogenia, já que são grupos irmãos. Marteinsdóttir e Erikson (2014) também encontraram convergência para AFE em um estudo de uma comunidade local de gramíneas. Para as espécies estudadas, existem evidências de convergência funcional

para a germinação e dormência de sementes (Silveira *et al.* 2012), reforçando a ideia de que os filtros ambientais exercem grande pressão seletiva nas espécies de campo rupestre.

O padrão divergente para área foliar e comprimento do pecíolo observados em Miconieae pode indicar a importância da competição por luz em espécies nessa tribo, sobretudo, as espécies que estão localizadas em habitats méxicos. Além disso, o padrão divergente observado para a densidade estomática abaxial em Miconieae pode ser explicado também pelo maior número de espécies dessa tribo presente em micro-habitat com algum sombreamento. Nessa condição, espécies com similar traços similares são esperadas que tivessem requerimento similar de recursos e dessa forma podem competir intensamente, de forma que a competição pode ser minimizada se as espécies diferem de outras espécies da comunidade, o que levaria a dispersão nos traços foliares em escala local (Violle & Yiang 2009). Também, Scheffer and Nes (2006) demonstraram que a co-evolução de características sobre condições competitivas pode resultar em espécies que são suficientemente divergentes para coexistir em determinado nicho, mas também podem resultar em agrupamento de espécies muito semelhantes que coexistem por competir de forma relativamente igual. Ao contrário, lidar com filtros ambientais como os que são observados em habitats xéricos pode levar a uma menor dispersão nos traços foliares de modo que as espécies apresentem convergência para esses traços (Weiher & Keddy 1995; Maire *et al.* 2012). Além disso, fenômenos como hibridação, poliploidia, apomixia observados em Miconieae podem explicar em parte, a riqueza de espécies e a diversidade de formas observadas nesse grupo (Mendes-Rodrigues & Oliveira 2012, Santos *et al.* 2012), eventos esses que podem ter relação com o grande número de divergências observadas em Miconieae. Liu *et al.* (2015) também

encontraram sinal filogenético para vários traços foliares em Magnoliaceae e atribui isso à grandes divergências entre linhagens de Magnoliaceae.

O sinal filogenético observado para a maioria dos traços funcionais foliares avaliados, associado com o padrão global de diversidade nos nós da raiz da árvore sugere que eventos remotos tenham exercido maior importância na evolução destes traços, do que eventos mais recentes. Isso também sugere que a maioria das espécies apresenta conservação de nicho para a maioria dos traços avaliados, embora a existência de sinal filogenético não necessariamente indica que a característica seja conservada, enquanto que o baixo sinal filogenético não necessariamente indica que os traços são lábeis (Wiens *et al.* 2010; Crisp & Cook 2012). Em contraste, eventos recentes podem levar a diferentes estratégias evolutivas resultando em convergências especialmente em Microlicieae. Eventos recentes estariam moldando a evolução de características funcionais foliares no recente grupo de Microlicieae (3,7 milhões de anos), o que coincide com a evolução deste clado quase endêmico dos campos rupestres (Fritsch *et al.* 2004). As convergências observadas, principalmente em Microlicieae e Melastomeae sugerem a manutenção de características que permita o estabelecimento e permanência em ambientes estressantes tais como os predominantes habitats xéricos, e também podem refletir o efeito filogenético, já que são grupos irmãos.

As divergências observadas principalmente em Miconieae também podem ser resultados de eventos ocorridos no passado, especialmente quando ocorreu a separação de Miconia do grupo Melastomeae/Microlicieae. Em toda a linhagem, quando as espécies se estabelecem em ambientes onde uma dada característica não é mais vantajosa, a característica anteriormente conservada é rapidamente perdida, e tais perdas podem ocorrer repetidamente em linhagens independentes (Crisp & Cook 2012). Além disso, espécies relacionadas podem divergir em algum aspecto ecológico para se adaptar

a diferentes partes do ambiente e para minimizar a sobreposição de recursos, e essa divergência pode ser repetida ao longo de muitos clados (Losos 2008; Crisp & Cook 2012), como seria o caso das múltiplas divergências observadas em Miconieae.

O padrão de convergências e divergências observado para os traços funcionais é coerente com as múltiplas mudanças em traços ao longo da evolução das Melastomataceae, fundamentais para ocupação de uma enorme variedade de habitats. Mudanças de traços ao longo da filogenia podem contribuir para explicar a coexistência de espécies (através da segregação de nicho) em ambientes megadiversos como o campo rupestre. O sinal filogenético observado para a maioria dos traços foliares avaliados ao longo da evolução de Melastomataceae pode ser um indício de possível conservação de nicho, uma vez que a flora do campo rupestre é formada por espécies que se originaram em diferentes biomas (Silveira *et al.* 2015) e mantiveram seus traços. O sinal filogenético detectado para a maioria dos traços funcionais tem importantes implicações para a conservação da biodiversidade, pois se a tolerância climática de uma espécie não é ampla o suficiente para abranger as novas condições ou se adaptar a essas mudanças, as espécies com forte conservação nicho podem migrar ou serem extintas, enquanto que espécies com características mais lábeis podem se adaptar (Wiens *et al.* 2010). Dessa forma, os resultados encontrados nesse trabalho têm grande importância, visto que as espécies avaliadas em sua maioria são exclusivas de ambientes montanhosos como os Campos Rupestres, que por sua vez são os mais impactados pelas mudanças climáticas (Colwell *et al.* 2008).

Referências bibliográficas

- Aasamaa K, Sober A, Rahi M. 2001. Leaf anatomical characteristics associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 765-774.
- Ackerly DD, Cornwell WR. 2007. A trait-based approach to community assembly: partitioning of species trait values into within- and among-community components. *Ecology Letters* 10: 135-145.
- Ackerly DD. *et al.* 2000. Ecophysiological traits: recent advances and future directions. *BioScience* 979: 979-995.
- Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, de Moraes JLG, Sparovek G. 2014. Köppen climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22: 711-728.
- Blomberg SP, Garland T, Ives AR. 2003. Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. *Evolution* 57:717-745.
- Brites D, Valladares F. 2005. Implications of opposite phyllotaxis for light interception efficiency of Mediterranean woody plants. *Trees* 19: 671-679.
- Brown JH, Stevens GC, Kaufman DM. 1996. The geographic range: Size, Shape, Boundaries, and Internal Structure. *Annual Review of Ecology and Systematics* 27: 597-623.
- Chesson P. 2000. Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31: 343-366.
- Chartzoulakis K, Bosabalidis A, Patakas A, Vemmos S. 2000. Effects of water stress on water relations, gas exchange and leaf structure of olive tree. *Acta Horticulture* 537: 241-247.
- Crisp M, Cook L. 2012. Phylogenetic niche conservatism: what are the underlying evolutionary and ecological causes? *New Phytologist* 196 (3): 681-94.
- Colwell RK, Brehm G, Cardelús CL, Gilman AC, Longino JT. 2008. Global warming, elevational range shifts, and lowland biotic attrition in the wet tropics. *Science* 322: 258-261.

- Conceição AA, Pirani JR. 2005. Delimitação de habitats em campos rupestres na Chapada Diamantina, Bahia: substratos, composição florística e aspectos estruturais. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* 23: 85-111.
- Cornwell WK, Ackerly DD. 2009. Community assembly and shifts in plant trait distributions across an environmental gradient in coastal California. *Ecological Monographs* 79: 109-126.
- Cornwell WK, Schwilk DW, Ackerly DD. 2006. A trait-based test for habitat at filtering: Convex hull volume. *Ecology* 87: 1465-1471.
- Dong M, During HJ, Werger MJA. 1996. Morphological responses to nutrient availability in four clonal herbs. *Vegetatio* 123: 183-192.
- Elias SRM, Assis RM, Stacciarini-Seraphin E, Rezende MH, Morretes BL. 2003. Anatomia foliar em plantas jovens de *Solanum lycocarpum* A.St. Hil. (Solanaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 26: 169-174.
- Fahn A, Cutler DF. 1992. Xerophytes. *Encyclopedia of plant anatomy*. (Borntraeger: Berlin).
- Falster DS, Westoby M. 2003. Leaf size and angle vary widely across species: what consequences for light interception? *New Phytologist* 158: 509-525.
- Felsenstein J. 1985. Phylogenies and the comparative method. *American Naturalist* 125: 1-15.
- Fonseca CR, Overton JM, Collins B, Westoby M. 2000. Shifts in trait combinations along rainfall and phosphorous gradients. *Journal of Ecology* 88: 964-977.
- França MGC, Prados LMZ, Lemos-Filho JP, Ranieri BD, Vale FHA. 2012. Morphophysiological differences in leaves of *Lavoisiera campos-portoana* (Melastomataceae) enhance higher drought tolerance in water shortage events. *Journal Plant Research* 125:85-92.
- Fritsch PW, Almeida F, Renner SS, Martins AB, Cruz, BC. 2004. Phylogeny and circumscription of the near-endemic Brazilian tribe Microlicieae (Melastomataceae). *American Journal of Botany* 91: 1105-1114.
- Giulietti AM, Pirani JR, Harley RM. 1997. Espinhaço range region, eastern Brazil. *In*: Davis, S.D.; Heywood, V.H.; Herrera-MacBryde, O.; Villa-Lobos, J. & Hamilton, A.C. (eds.). *Centres of plant diversity: a guide and strategy for their conservation*. Vol.3. WWF/IUCN, Cambridge. Pp. 397-404.

- Giulietti AM, Pirani JR. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço range, Minas Gerais and Bahia. In: Heyer, W. R. & Vanzolini P. E. (Eds) Proceedings of a Workshop of a Neotropical Distribution Patterns. Rio de Janeiro, Academia Brasileira de Ciências, 1988. p. 39-69.
- Goldenberg R, Penneys DS, Judd AF, Michelangeli F. 2008. Phylogeny of *Miconia* (Melastomataceae): Patterns of stamen diversification in a megadiverse neotropical genus. *International Journal Plant Science*. 169: 963-979.
- Goldenberg R, Almeda F, Caddah MK, Martins AB, Meirelles J, Michelangeli FA, Weiss M. 2013. Nomenclator botanicus for the neotropical genus *Miconia* (Melastomataceae: Miconieae). *Phytotaxa* 106: 1-171.
- Götzenberger L, de Bello F, Brathen, KA, Davison J, Dubuis A, Guisan A, Leps J, Lindborg R, Moora M, Pärte M, Pellissier L, Pottier J, Vittoz P, Zobel K, Zobel M. 2012. Ecological assembly rules in plant communities—approaches, patterns and prospects. *Biological Reviews* 87: 111-127.
- Grime JP. 2006. Trait convergence and trait divergence in herbaceous plant communities: mechanisms and consequences. *Journal of Vegetation Science* 17: 255-260.
- Helsen K, Hermy M, Honnay O. 2012. Trait but not species convergence during plant community assembly in restored semi-natural grasslands. *Oikos* 121: 2121-2130.
- Hopper SD. 2009. OCBIL theory: towards an integrated understanding of the evolution, ecology and conservation of biodiversity on old, climatically buffered, infertile landscapes. *Plant & Soil* 322: 49-86.
- Johansen DA. 1940. *Plant microtechnique*. McGraw- Hill, New York. Pp. 523
- Jung V, Violle C, Mondy C, Hoffmann L, Muller S. 2010. Intraspecific variability and trait-based community assembly. *Journal of Ecology* 98:1134-1140.
- Kembel SW, Ackerly DD, Blomberg SP, Cornwell WK, Cowan P, Helmos MR, Moslon H, Webb CO. 2014. Picante: R tools for integrating phylogenies and ecology. *Bioinformatics* 26:1463-1464.
- Kraft NJB, Valencia R, Ackerly DD. 2008. Functional Traits and Niche-Based Tree Community Assembly in an Amazonian Forest. *Science* 322: 580-582.

- Kraus J, Arduin M. 1997. Manual básico de métodos em morfologia vegetal. EDUR, Seropédica.
- Liu H, Xu Q, He P, Santiago LS, Yang K, Ye Q. 2015. Strong phylogenetic signals and phylogenetic niche conservatism in ecophysiological traits across divergent lineages of Magnoliaceae. *Nature, Scientific Reports* 5 doi:10.1038/srep12246
- Losos JB. 2008. Phylogenetic niche conservatism, phylogenetic signal and the relationship between phylogenetic relatedness and ecological similarity among species. *Ecology Letters* 11: 995-1007.
- Lusa MG, Appezato-da-Glória B, Loeuillec B, Bartoli G, Ciccarelli D. 2014. Functional groups in Lychnophorinae (Asteraceae: Vernoniaeae) based on morphological and anatomical traits. *Australian Journal of Botany* 62: 150-163.
- McGill BJ, Enquist BJ, Weither E, Westoby. 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in Ecology and Evolution* 21: 178-185.
- Maddison WP, Maddison DR. 2008. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Version 2.5. <http://mesquiteproject.org>.
- Maire V, Gross N, BorgerL, Proulx R, Wirth C, Pontes LS, Soussana JF, Louault F. 2012. Habitat filtering and niche differentiation jointly explain species relative abundance within grassland communities along fertility and disturbance gradients. *New Phytologist* 196: 497-509.
- Marques AR, Garcia QS, Rezende JLP, Fernandes GW. 2000. Variations in leaf characteristics of two species of *Miconia* in the Brazilian cerrado under the different light intensities. *Tropical Ecology* 41(1): 47-60.
- Marteinsdóttir B, Eriksson O. 2014. Plant community assembly in semi-natural grasslands and ex-arable fields: a trait-based approach. *Journal of Vegetation Science* 25: 77-87.
- Mayfield MM, Levine JM. 2010. Opposing effects of competitive exclusion on the phylogenetic structure of communities. *Ecology Letters* 13: 1085-1093.
- Mayfield MM, Boni MF, Ackerly DD. 2009. Traits, habitats and clades: Identifying traits of potential importance to environmental filtering. *The American Naturalist* 174: E1-E22.
- Mendes-Rodrigues C, Oliveira PE. 2012. Polyembryony in Melastomataceae from Brazilian Cerrado: multiple embryos in a small world. *Plant Biology* 14: 845-853.

- Michelangeli FA, Guimaraes PJF, Penneys DS, Almeda F, Kriebel R. 2013. Phylogenetic relationships and distribution of New World Melastomeae (Melastomataceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 171: 38-60.
- Michelangeli FA, Judd WS, Penneys DS, Jr JDS, Becquer-Granado ER, Goldenberg R, Martin C. 2008. Multiple events of dispersal and radiation of the tribe Miconieae (Melastomataceae) in the Caribbean. *The Botany Review*. 74:53-77.
- Moles AT, Ackerly DD., Webb CO, Tweddle JC, Dickie JB, Westoby M. 2005. A brief history of seed size. *Science* 307: 576-580.
- Mott KA, Gibson AC, O'Leary JW. 1982. The adaptative significance of amphistomatic leaves. *Plant Cell and Environment* 5: 455-460.
- Münkemüller T, Lavergne S, Bzeznik B, Dray S, Jombart T, Schifffers K, Thuiller W. 2012. How to measure and test phylogenetic signal. *Methods in Ecology and Evolution* 3: 743-756.
- Negreiros D, Le Stradic S, Fernandes GW, Rennó HC. 2014. CSR analysis of plant functional types in highly diverse tropical grasslands of harsh environments. *Plant Ecology* 215: 379-388.
- Niinemets U, Portsmouth A, Tobias M. 2007. Leaf shape and venation pattern alter the support investments within leaf lamina in temperate species: a neglected source of leaf physiological differentiation? *Functional Ecology* 21: 28-40.
- Niinemets U, Fleck S. 2002. Petiole mechanics, leaf inclination, morphology, and investment in support in relation to light availability in the canopy of *Liriodendron tulipifera*. *Oecologia* 132: 21-33.
- Niinemets U. 1998. Adjustment of foliage structure and function to a canopy light gradient in two co-existing deciduous trees. Variability in leaf inclination angles in relation to petiole morphology. *Trees* 12: 446-451.
- Oliveira R, Galvão HC, Campos MCR et al. 2015. Mineral nutrition of campos rupestres plant species on contrasting nutrient-impooverished soil types. *New Phytologist* 205: 1183-1194.
- Pavoine S, Michel B, Bonsall MB. 2010. Decomposition of trait diversity among the nodes of a phylogenetic tree. *Ecological Monographs* 80: 485-507.
- Pavoine S, Vallet J, Dufour A B, Gachet S, Daniel H. 2009. On the challenge of treating various types of variables: application for improving the measurement of functional diversity. *Oikos* 118: 391-402.

- Pérez-Harguindeguy et al. 2013. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany* 61: 167-234.
- Pearcy RW, Millard S, Bray DF, Rood SB. 2006. Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment. *Tree Physiology* 26: 211-218.
- Pearcy RW, Muraoka H, Valladares F. 2005. Crown architecture in sun and shade environments: assessing function and trade-offs with a three-dimensional simulation model. *New Phytologist* 166: 791-800.
- Poorter L. 2009. Leaf traits show different relationships with shade tolerance in moist versus dry tropical forests. *New Phytologist* 181: 890-900.
- R Development Core Team 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>
- Reich PB, Wright I, Cavender-Bares J, Craine J, Oleksyn J, Westoby M. & Walters M. 2003. The evolution of plant functional variation: traits, spectra, and strategies. *International Journal of Plant Sciences* 164: S143-S164.
- Renner SS, Clausen G, Meyer K. 2001. Historical Biogeography of Melastomataceae: The roles of Tertiary Migration and Long-Distance Dispersal. *American Journal of Botany* 88(7): 1290-1300.
- Rossatto DR, Kolb RM. 2010. *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera (Asteraceae) changes in leaf structure due to differences in light and edaphic conditions. *Acta Botanica Brasilica* 24(3): 605-612.
- Santos APM, Fracasso CM, Santos ML, Romero R, Sazima M, Oliveira PE. 2012. Reproductive biology and species geographical distribution in the Melastomataceae: a survey based on New World taxa. *Annals of Botany* 110: 667-679.
- Scheffer M, van Nes E H. 2006. Self-organized similarity, the evolutionary emergence of groups of similar species. *PNAS* 103 (16): 6230-6235.
- Silveira FAO, Negreiros D, Barbosa NPU, Buisson E, Carmo FF. et al. 2015. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. *Plant Soil* doi 10.1007/s11104-015-2637-8.
- Silveira FAO, Fernandes GW, Lemos-Filho JP. 2013. Ecophysiology of Neotropical Melastomataceae: Implications for Conservation and Restoration of Savannas and Rainforest. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 99: 82-99.

- Silveira FAO, Ribeiro RC, Oliveira DMT, Fernandes GW, Lemos-Filho JP. 2012. Evolution of physiological dormancy multiple times in Melastomataceae from Neotropical montane vegetation. *Seed Science Research* 22: 37-44.
- Takenaka A. 1994. Effects of leaf blade narrowness and petiole length on the light capture efficiency of a shoot. *Ecological Research* 9: 109-114.
- Turner IM. 1994. Sclerophylly – primarily protective? *Functional Ecology* 8: 669-675.
- Violle C, Jiang L. 2009. Towards a trait-based quantification of species niche. *Journal of Plant Ecology* 2: 87-93.
- Violle C, Navas M, Vile D, kazakou E, Fortunel C, Hummel I, Garnier E. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116: 882-892.
- Vogelmann TC. 1993. Plant tissue optics. *Annual Review Plant Physiology* 44: 231-251.
- Webb CO, Ackerly DD, Kembel SW. 2006. Phylocom: software for the analysis of community phylogenetic structure and trait evolution. Version 4.0. <http://www.phylodiversity.net/phylocom/>
- Webb CO, Ackerly DD, McPeck MA, Donoghue MJ. 2002. Phylogenies and community ecology. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 33: 475-505.
- Webb CO. 2000. Exploring the phylogenetic structure of ecological communities: An example for rain forest trees. *The American Naturalist* 156: 145-155.
- Weiher E, Keddy PA. 1995. Assembly Rules, Null Models, and Trait Dispersion: New Questions from Old Patterns. *Oikos* 74: 1159-164.
- Westoby M, Warton D, Reich PB. 2000. The time value of leaf area. *The American Naturalist* 155: 649-656.
- Wiens JJ, Ackerly DD, Allen AP *et al.* 2010. Niche conservatism as an emerging principle in ecology and conservation biology. *Ecology Letters* 13: 1310-1324.
- Wright IJ, Reich PB, Westoby M *et al.* 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* 428: 821-827.

Capítulo 2

**Relações hídricas e fotossíntese em
Melastomataceae do campo rupestre: efeitos
da sazonalidade e do habitat**

Relações hídricas e fotossíntese em Melastomataceae do campo rupestre: efeitos da sazonalidade e do habitat

Resumo

O Campo Rupestre é caracterizado pela presença de solos ácidos com baixa disponibilidade de nutrientes, alta luminosidade e variação sazonal na disponibilidade de água no solo, além de uma complexidade de tipos de solos que determinam a ocorrência de um mosaico de habitats méxico e xéricos. Essa variação sazonal na disponibilidade de água aliada à alta luminosidade pode provocar diminuição no potencial hídrico foliar e fotoinibição levando as espécies a desenvolverem mecanismos para lidar com essas adversidades ambientais. Nesse estudo avaliamos o *status* hídrico, desempenho fotossintético e medidas de curvas de resposta à luz em 12 espécies de Melastomataceae do Campo Rupestre localizadas em habitat méxico e xérico. Hipotetizamos que o estresse hídrico sazonal pode levar ao decréscimo no potencial hídrico foliar, especialmente, em espécies de habitat xérico, e também pode ocasionar fotoinibição devido à alta luminosidade associada com o estresse hídrico. Avaliamos o *status* hídrico através de medidas do potencial hídrico foliar, e avaliamos a ocorrência de fotoinibição com medidas de rendimento quântico potencial (F_v/F_m) através de medidas de fluorescência da clorofila. Espécies de habitat xérico apresentaram valores de potencial hídrico mais negativo especialmente na estação seca, e com decréscimos no meio do dia. Além disso, fotoinibição também foi detectada em quase todas as espécies de habitat xérico e em algumas espécies de habitat méxico, principalmente, na estação seca. Espécies de habitat xérico apresentaram maiores valores de Máxima Taxa de Transporte de Elétrons (ETR_{max}) e Densidade de Fluxo de Fótons Fotossintetizantes

(DFFF_{90%}) quando comparadas com espécies de habitat mésico, mostrando que as espécies se adaptam à alta intensidade de luz presente especialmente em habitat xérico.

Palavras chave: curvas de resposta à luz, respostas ecofisiológicas, espécies endêmicas, fluorescência da clorofila, potencial hídrico foliar.

Water relations and photosynthesis in Melastomataceae the rocky fields: effects of seasonality and micro-habitat

Abstract

Campo rupestre is characterized by the presence of acidic soils with low nutrient availability, high luminosity and seasonal variation in the availability of water, as well as a complexity of soil types that produce a mosaic of mesic and xeric habitats. This seasonal variation in water availability combined with the high luminosity can cause photoinhibition and a decrease in leaf water potential causing species to develop mechanisms to deal with these environmental adversities. In this study we evaluated the hydric status, photosynthetic performance and measures of the light response curves for 12 species of the family Melastomataceae located in mesic and xeric habitats of campos rupestres. We hypothesized that seasonal hydric stress can lead to a decrease in leaf water potential, especially for species in xeric habitats, and can cause photoinhibition due to the high luminosity associated with hydric stress. We evaluated hydric status by measuring leaf water potential and evaluated photoinhibition by measuring potential quantum yield (F_v/F_m) using chlorophyll fluorescence. Species of xeric habitats exhibited more negative values for water potential, especially in the dry season and lower during the middle of the day. Furthermore, photoinhibition was also detected in almost all of the species of xeric habitats and in some species in mesic habitats, mainly during the dry season. Additionally, the species in xeric habitats had higher maximum electron transport rate (ETR_{max}) and photosynthetic photon flux density at $ETR_{90\%}$ ($PPFD_{90\%}$) values compared with species from mesic habitats, showing that species adapt to the presence of high light intensity, especially in xeric habitats.

Key words: chlorophyll fluorescence, ecophysiological response, endemic species, leaf water potential, light response curves.

Introdução

Os campos rupestres incluem um mosaico gramíneo com arbustos esparsos e árvores crescendo entre afloramentos rochosos em uma altitude entre 800 e 1200 m principalmente na cadeia do Espinhaço (Silveira *et al.* 2015). O campo rupestre quartzítico é caracterizado pela presença de solos ácidos com baixa disponibilidade de nutrientes, alta luminosidade e variação sazonal na disponibilidade de água no solo (Oliveira *et al.* 2015; Silveira *et al.* 2015). Essa variação na disponibilidade hídrica no campo rupestre ocorre em escala temporal e espacial devido à marcante sazonalidade climática com uma estação seca que se prolonga por seis meses bem como à complexidade do mosaico de solos com diferenças acentuadas na granulometria, profundidade, distribuídos em uma topografia acidentada determinando ocorrência de habitats mais xéricos ou mais méxicos (Silveira *et al.* 2015).

Há relativamente um bom conhecimento sobre a florística da cadeia do Espinhaço, no entanto, há poucos estudos de campo focando a resposta das plantas em relação ao estresse hídrico e lumínico (Lemos-Filho 2000; Morales *et al.* 2015). Decréscimo na condutância estomática em resposta ao estresse hídrico foi observado em um estudo experimental com *Lavoisiera campos-portoana*, uma espécie endêmica dos campos rupestres (França *et al.* 2012). Danos no aparato fotossintético devido ao excesso de luz foram observados em espécies lenhosas (Lüttge *et al.* 1998; Lemos-Filho 2000). No entanto, em estudos com espécies de Velloziaceae não foi constatado significativa fotoinibição mesmo durante a estação seca (Lüttge *et al.* 2007, Morales *et al.* 2014). Em contraste com o observado nas espécies de Velloziaceae, um recente estudo com *Chamaecrista semaphora* (uma leguminosa também endêmica dos campos rupestres) registrou decréscimo no potencial hídrico ao meio dia acompanhado por

decréscimo significativo nos valores de rendimento quântico potencial do fotossistema II (PSII) (Castro *et al.* 2015).

Os dados, às vezes contrastantes e a escassez de estudos ecofisiológicos abrangendo um maior número de espécies nesse ambiente com flora riquíssima limitam o entendimento das estratégias que determinam o sucesso das espécies nesse ambiente particular. Considerando a heterogeneidade espacial no campo rupestre com a presença de habitats méxicos e xéricos e grande variação estacional da precipitação, no presente estudo selecionamos 12 espécies de Melastomataceae (Tabela 1), umas das famílias mais representativas nos campos rupestres (Silveira *et al.* 2015). A opção para a escolha deste grupo de plantas permitiu eliminar o viés filogenético, uma vez que procuramos comparar espécies congênicas de três tribos que ocorrem em habitats méxicos e xéricos.

Hipotetizamos que espécies de habitat xéricos, devido ao estresse hídrico mais severo, notadamente na estação seca, apresentam menores valores de potencial hídrico quando comparadas com as de ocorrência em habitat mais méxico independente da tribo avaliada. É também hipotetizado que devido às condições mais estressantes a ocorrência de fotoinibição é mais frequente nas espécies de habitat xéricos, que exibirão também um pior desempenho fotossintético avaliado por medidas de fluorescência da clorofila.

Material e Métodos

Área de estudo e espécies selecionadas

Este estudo foi desenvolvido na Serra do Cipó, localizada na porção sul da Cadeia do Espinhaço, sudeste do Brasil. Nessa região o clima é classificado como Cwb na classificação Köppen, com verões chuvosos e invernos secos, com uma precipitação média anual de 1500 mm (Alvares *et al.* 2014). Na área de estudo, foram coletados dados de dois anos consecutivos (2013-2014) em duas estações meteorológicas automáticas instaladas em dois habitats, a 1000 m e 1200 m de altitude. O ano de 2014 apresentou uma estação seca mais prolongada que 2013, com sete meses de precipitação inferior a 50 mm (Figura 3 da introdução). A temperatura média mensal máxima ocorreu no verão com valores próximos a 23°C na estação posicionada a 1000m. Por outro lado, a temperatura média mensal não ultrapassou 22°C. A menor temperatura média mensal foi registrada em Julho de 2014 (16,4°C) (Figura 3 da Introdução geral). Para caracterizar a umidade do solo nos habitats méxicos e xéricos foi empregado um medidor FieldScout TDR 100 (Spectrum Technologies Inc., USA). Em cada habitat durante todos os meses entre março de 2013 e setembro de 2014 foram efetuadas cinco medidas utilizando-se pinos de 12 cm de comprimento. Os dados obtidos caracterizando uma maior umidade ao longo do ano no sítio méxico podem ser verificados na Figura 4 da Introdução geral.

Nesse estudo, as áreas de habitat xéricos foram caracterizadas por serem áreas de afloramentos rochosos, com solo raso e arenoso ou pedregoso, e alta luminosidade, onde plantas desenvolvem-se entre rochas ou em microsítios onde há condições para fixação das raízes. Os habitat méxicos foram caracterizados como áreas localizadas ao longo de córregos e nascentes, com vegetação mais densa, e variação na disponibilidade de luz resultante do sombreamento causado pelas espécies presentes nesse local. Foram

selecionadas quatro espécies de cada uma das três tribos de Melastomataceae: Melastomeae, Miconieae e Microlicieae. Para controlar o efeito da filogenia, dentro de cada tribo, escolhemos dois pares de espécies congênicas (Tabela 1). Para cada espécie foram marcados cinco indivíduos que foram utilizados para a coleta de todas as variáveis estudadas.

Tabela 1. Espécies avaliadas em cada tribo e seu respectivo habitat na Serra do Cipó – MG.

| Tribos | Espécies | Habitat |
|---------------|-----------------------------------|----------------|
| Melastomeae | <i>Tibouchina martiusiana</i> | xérico |
| | <i>Tibouchina cardinalis</i> | xérico |
| | <i>Tibouchina heteromalla</i> | mésico |
| | <i>Tibouchina candolleana</i> | mésico |
| Miconieae | <i>Miconia albicans</i> | xérico |
| | <i>Miconia cipoensis</i> | xérico |
| | <i>Miconia chamissois</i> | mésico |
| | <i>Miconia theaezans</i> | mésico |
| Microlicieae | <i>Lavoisiera campos-portoana</i> | xérico |
| | <i>Trembleya laniflora</i> | xérico |
| | <i>Lavoisiera confertiflora</i> | mésico |
| | <i>Trembleya parviflora</i> | mésico |

Avaliação do status hídrico

A avaliação das medidas de potencial hídrico do xilema, rendimento quântico potencial (Fv/Fm), conteúdo relativo de água (CRA), e suculência foram realizadas na estação chuvosa (Março de 2014) e na estação seca (Agosto de 2014). Nos dias em que foram avaliadas as variáveis ecofisiológicas foram obtidos dados do curso diário de radiação fotossinteticamente ativa, temperatura e umidade relativa do ar, utilizando-se sensores acoplados a um datalogger LI 1400 (Li-cor, USA) (Figura 1).

Para a determinação do potencial hídrico foram coletados ramos terminais no pré-amanhecer e no meio do dia em cinco indivíduos por espécie, sendo o material coletado, acondicionado em caixa de isopor e imediatamente utilizado para as medições, com o uso de uma câmara de pressão modelo PMS 600 (PMS instruments, Covalis, Oregon, USA). Foi também determinado o conteúdo relativo de água (CRA) conforme Barrs and Weatherley (1962): $CRA = (\text{Peso Fresco} - \text{Peso Seco}) / (\text{Peso Túrgido} - \text{Peso Seco}) * 100$, e a suculência foliar segundo Ogburn & Edwards (2012): $Suculência = (\text{Peso Túrgido} - \text{Peso Seco}) / \text{Peso Seco}$, em folhas expandidas do terceiro entre-nó.

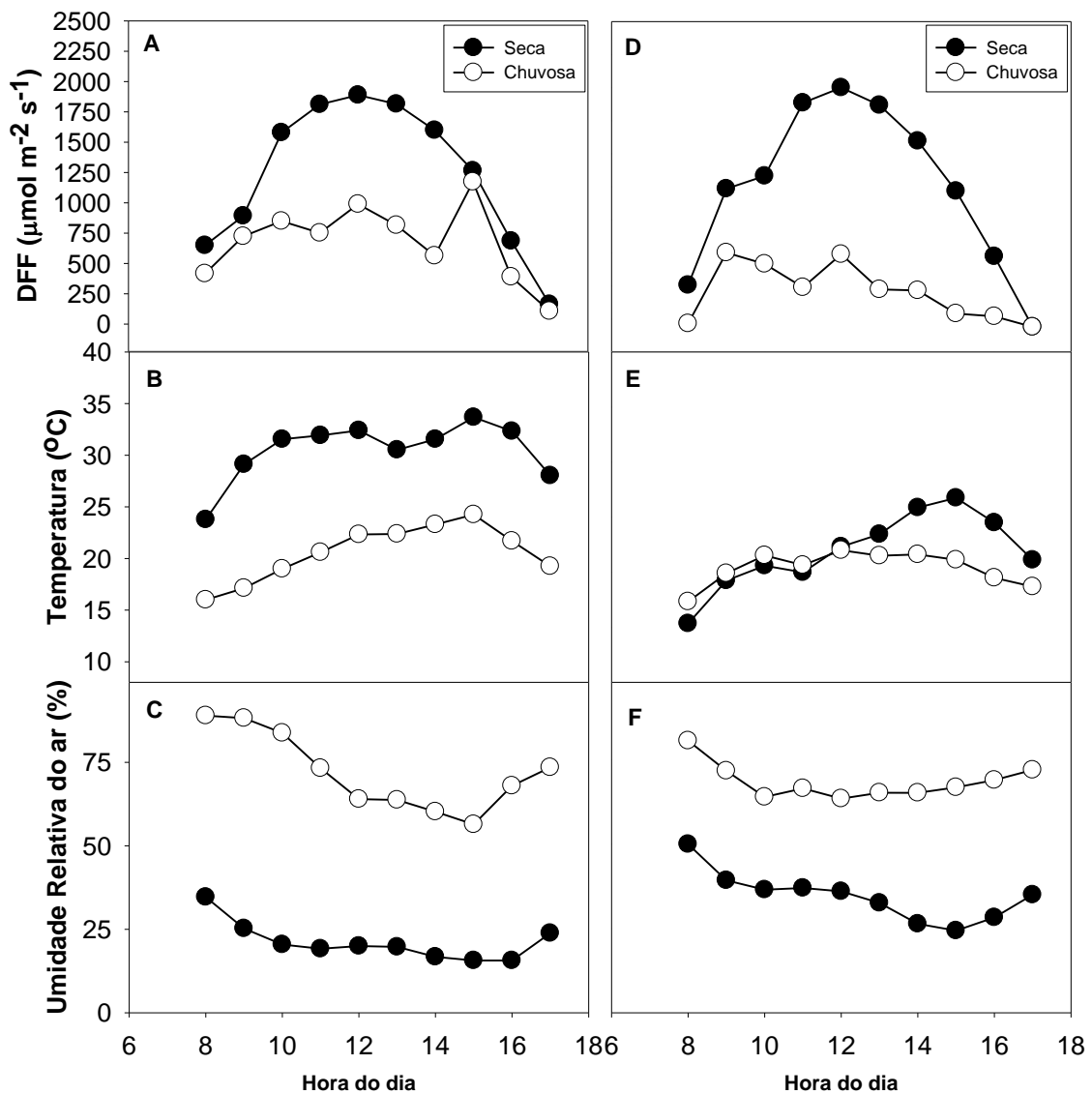


Figura 1. Variáveis ambientais; Densidade de Fluxo de Fótons (DDF), temperatura e umidade relativa do ar medidas nos dias em que foram coletados os materiais para avaliação do potencial hídrico e F_v/F_m em espécies de habitat méxico (A, B, C) e xérico (D, E, F).

Avaliação da fotoinibição

Para identificar a ocorrência de fotoinibição no campo foram realizadas medidas do rendimento quântico potencial (F_v/F_m) em dois horários do dia, no pré-amanhecer e no meio do dia, na estação seca e na estação chuvosa, utilizando-se um medidor de fluorescência modulada (MINI-PAM Waltz, Alemanha). Após adaptação da folha ao escuro por cerca de 30 minutos, foi avaliado o rendimento quântico potencial (F_v/F_m) do fotossistema II (PSII) *in situ* (Rascher *et al.* 2000). Para o cálculo do F_v/F_m ($F_v = F_m - F_0$) é medido o F_v (fluorescência variável) em folhas adaptadas ao escuro, e F_m (fluorescência máxima) da folha adaptada ao escuro após um pulso de luz saturante, e F_0 é a fluorescência basal produzida por folhas adaptadas ao escuro.

Curvas de reposta à luz foram obtidas para as espécies na estação seca (Agosto de 2014) utilizando o Mini-PAM programado para incremento da intensidade luminosa em oito etapas de 30 segundos cada. A taxa aparente de transporte de elétrons (ETR) foi calculada como $0,84 \times 0,5 \times \Delta F/F_m' \times \text{PPFD}$. Nesse cálculo é assumido a absorção de 84% da luz incidente e que ocorre igual partição da energia de excitação entre os dois fotossistemas (Genty *et al.* 1990). A radiação fotossinteticamente ativa incidente (PPFD) foi medida com um micro sensor quântico do leaf clip holder. Os valores de ETR e $\Delta F/F_m'$ obtidos foram utilizados para a determinação dos pontos cardinais da curvas de luz conforme Rascher *et al.* (2000). Esses pontos foram: ETR à luz saturante (ETR_{Max}); PPFD para alcançar 90% e 50% de ETR_{MAX} ($\text{PPFD}_{90\%}$, $\text{PPFD}_{50\%}$); $\Delta F/F_m'$ correspondente à ETR_{Max} ($\Delta F/F_m'_{\text{Sat}}$) e $\Delta F/F_m'$ a 50% of ETR_{Max} ($\Delta F/F_m'_{50\%}$).

Análise Estatística

Para avaliar se existem diferenças entre estação e habitat e interação estação e habitat para o conjunto de espécies nesse estudo foi realizada uma análise de variância *two-way* ANOVA, seguida de teste de Tukey. Para avaliar diferenças entre habitat méxico e xérico para dados obtidos a partir da curva de luz foi utilizado um teste T de Student. Para avaliar separadamente cada tribo para as medidas de potencial hídrico foliar e Fv/Fm, e para cada espécie para o CRA e Suculência foi realizada uma análise de variância *one-way* ANOVA seguida de teste de Tukey utilizando o software JMP® 5.0 (SAS Institute, Inc. 2002). Em todas as análises, considerou-se o valor de $\alpha = 0,05$.

Resultados

Avaliação do status hídrico e fotoinibição

Por ocasião da avaliação do *status* hídrico e medidas de fluorescência da clorofila foram registrados maiores valores de DFF e temperatura do ar e menores valores de umidade relativa do ar na estação seca, tanto no ambiente xérico quanto méxico (Figura 1).

Observamos diferença significativa para o potencial hídrico para estação e habitat tanto no pré-amanhecer quanto no meio do dia (Tabela 2) com o potencial hídrico mais negativo em espécies de habitat xérico quando comparado com espécies de habitat méxico, tanto no pré-amanhecer quanto no meio do dia (Figura 2A). E Também observamos que os valores em geral foram mais negativos na estação seca para espécies dos dois habitats (Figura 2 A e E).

Quanto aos valores de Fv/Fm encontramos diferença significativa para estação, habitats e interação estação x habitat em medidas realizadas no pré-amanhecer. Entretanto, para o meio do dia, diferenças significativas só foram observadas entre estações (Tabela 2). Os valores de Fv/Fm foram maiores no pré-amanhecer em ambas

espécies de habitat mésico e xérico, não havendo diferença entre mésico e xérico tanto no pré-amanhecer (Figura 2B) quanto no meio do dia na estação chuvosa (Figura 2F). Na estação seca foi observado um decréscimo significativo dos valores de F_v/F_m no pré-amanhecer em espécies de habitat xérico que se mostraram fotoinibidas em medidas realizadas já no pré-amanhecer (Figura 2B). Fotoinibição foi observada na estação seca em medidas realizadas no meio do dia em espécies de habitat mésico e xérico (Figura 2F). Na estação chuvosa, medidas realizadas no pré-amanhecer e no meio do dia não observamos diferença significativa entre espécies de habitat mésico e xérico (Figura 2B e 2F). Entretanto, quando avaliado cada espécie separadamente, observamos diferenças significativas entre estação seca e chuvosa para dados coletados no pré-amanhecer e meio do dia (Tabela S1, material suplementar). Na estação chuvosa no pré-amanhecer apenas *M. theaezans* e *M. chamissois* estavam fotoinibidas, já no meio do dia metade das espécies estavam fotoinibidas na estação chuvosa. Na estação seca tanto em medidas realizadas no pré-amanhecer quanto no meio do dia, a maioria das espécies estava fotoinibida (Tabela S1, material suplementar).

Para o CRA diferenças significativas só foram observadas na interação estação x habitat no pré-amanhecer, enquanto que no meio do dia observamos diferenças significativas apenas para comparações entre de habitat (Tabela 2). Não observamos diferença significativa entre espécies de habitat xérico e mésico em medidas realizadas no pré-amanhecer tanto na estação seca quanto na estação chuvosa (Figura 2C). Em poucas espécies foram observadas diferenças significativas para medidas realizadas no pré-amanhecer entre estação seca e chuvosa, e para medidas realizadas no meio do dia, e em geral a maioria das espécies apresentaram valores acima de 70% (Tabela S2 material suplementar).

Em relação à suculência comparações foram significativas para estação e habitats no pré-amanhecer, enquanto que no meio do dia só foi observada diferença nas comparações para habitats (Tabela 2). A suculência foi maior na estação chuvosa, com maiores valores observados em espécies de habitat méxico, tanto no pré-amanhecer quanto no meio do dia (Figura 2D e 2H). Na comparação dentro de cada espécie algumas diferenças foram significativas para o pré-amanhecer e meio do dia entre estação seca e chuvosa, mas em geral os valores de suculência foram baixos (Tabela S3, material suplementar).

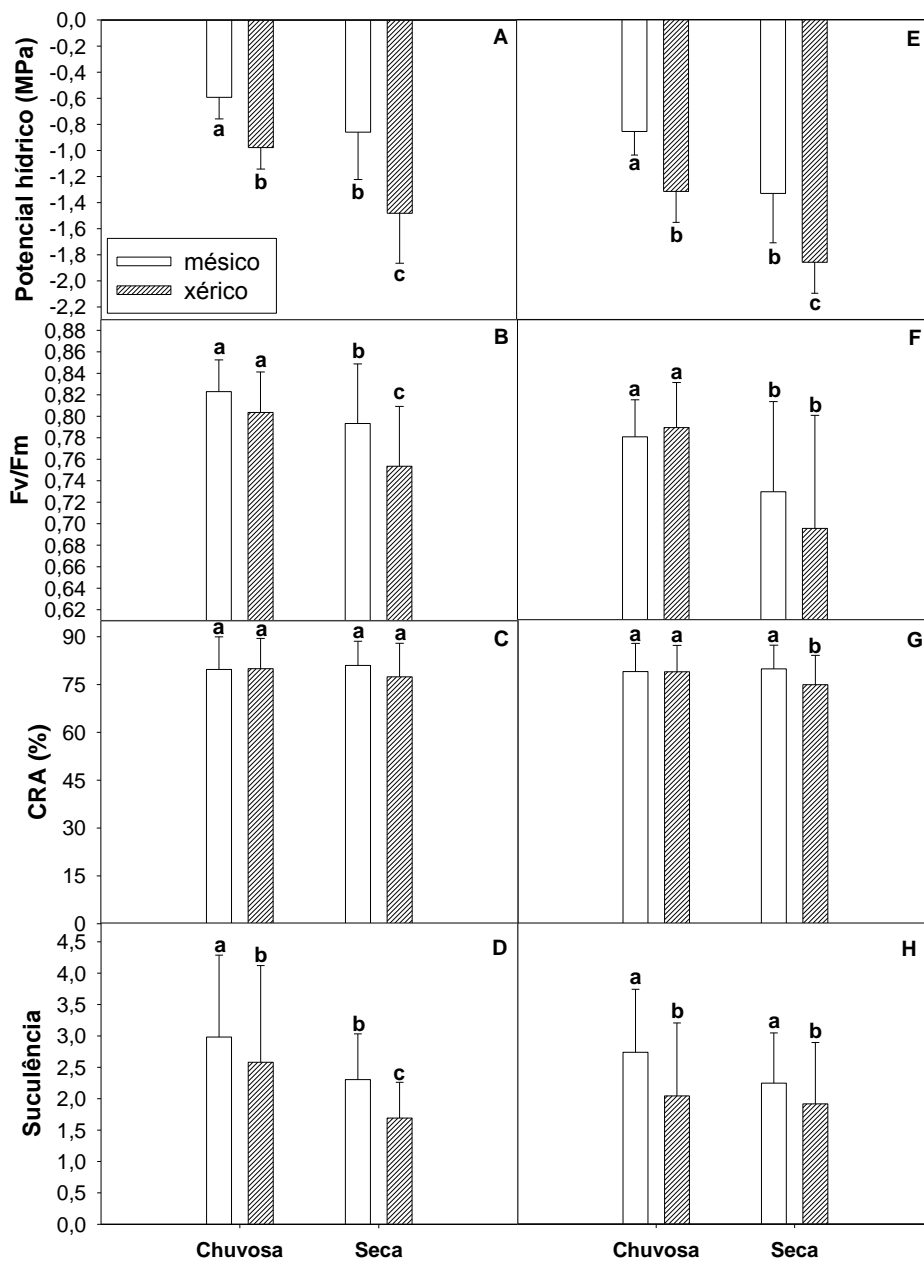


Figura 2. Valores de potencial hídrico foliar; rendimento quântico potencial (Fv/Fm), Conteúdo Relativo de Água (CRA) e Suculência foliar em espécies localizadas em habitats méxico e xérico no pré-amanhecer (A, B, C, D) e meio do dia (E, F, G, H). Valores médios, e desvio-padrão, n=6 espécies por habitat, *two-way* ANOVA, seguida de teste de Tukey, $p < 0,05$. Letras diferentes denotam diferença significativa.

Tabela 2. Resultado da *Two-Way* ANOVAs seguida de teste de Tukey, para traços funcionais foliares em Melastomataceae de Campos Rupestres na Serra do Cipó-MG, $p < 0,05$ *, $p < 0,01$ **, $p < 0,001$ ***.

| Fonte de Variação | Pré-amanhecer | | | | Meio-dia | | | |
|--------------------------|---------------|--------|--------|-----------------|----------|--------|--------|------------------|
| | DF | SS | MS | F | DF | SS | MS | F |
| Potencial Hídrico | | | | | | | | |
| Estação | 1 | 3,441 | 3,441 | 47,81*** | 1 | 9,330 | 9,330 | 98,098*** |
| Habitat | 1 | 6,247 | 6,247 | 86,8*** | 1 | 8,835 | 8,835 | 92,892*** |
| Estação x Habitat | 1 | 0,236 | 0,236 | 3,277 | 1 | 0,117 | 0,117 | 1,226 |
| Resíduo | 116 | 8,349 | 0,0720 | | 116 | 11,032 | 0,0951 | |
| Total | 119 | 18,273 | 0,154 | | 119 | 29,313 | 0,246 | |
| Fv/Fm | | | | | | | | |

| | | | | | | | | |
|-------------------|-----|---------|---------|-----------------|-----|----------|----------|-----------------|
| Estação | 1 | 0,0257 | 0,0257 | 42,21*** | 1 | 0,0618 | 0,0618 | 27,59*** |
| Habitat | 1 | 0,00293 | 0,00293 | 4,81* | 1 | 0,000795 | 0,000795 | 0,355 |
| Estação x Habitat | 1 | 0,00472 | 0,00472 | 7,73** | 1 | 0,00375 | 0,00375 | 1,676 |
| Resíduo | 116 | 0,071 | 0,00061 | | 116 | 0,260 | 0,00224 | |
| Total | 119 | 0,104 | 0,0009 | | 119 | 0,326 | 0,00274 | |

CRA

| | | | | | | | | |
|-------------------|-----|-----------|-----------|--------------|-----|-----------|-----------|-----------------|
| Estação | 1 | 0,0000181 | 0,0000181 | 0,0065 | 1 | 0,00206 | 0,00206 | 0,065 |
| Habitat | 1 | 0,00484 | 0,00484 | 1,75 | 1 | 0,668 | 0,668 | 21,12*** |
| Estação x Habitat | 1 | 0,0135 | 0,0135 | 4,89* | 1 | 0,0000976 | 0,0000976 | 0,003 |
| Resíduo | 116 | 0,32 | 0,00276 | | 116 | 3,668 | 0,0316 | |
| Total | 119 | 0,339 | 0,00285 | | 119 | 4,338 | 0,0365 | |

Suculência

| | | | | | | | | |
|-------------------|-----|------------|------------|-----------------|-----|-----------|-----------|-----------------|
| Estação | 1 | 0,295 | 0,295 | 7,794** | 1 | 0,00743 | 0,00743 | 0,176 |
| Habitat | 1 | 0,729 | 0,729 | 19,269** | 1 | 0,777 | 0,777 | 18,415** |
| Estação x Habitat | 1 | 0,00000616 | 0,00000616 | 0,000161 | 1 | 0,0000325 | 0,0000325 | 0,000771 |
| Resíduo | 116 | 4,389 | 0,0376 | | 116 | 4,895 | 0,0422 | |
| Total | 119 | 5,413 | 0,0455 | | 119 | 5,679 | 0,0477 | |

Ao avaliarmos o potencial hídrico para cada Tribo separadamente na estação seca e chuvosa em Miconieae no pré-amanhecer foram observadas diferenças significativas no potencial hídrico foliar com espécies de habitat xérico *M. albicans* e *M. cipoensis* apresentando valores de potencial hídrico mais negativo (Figura 3A e Figura 3D) no pré-amanhecer. Já meio do dia foram observadas diferenças significativas entre as espécies de ambiente méxico e xérico (Figura 3A e Figura 3D) sendo que novamente, as espécies *M. chamissois* e *M. theaezans* apresentaram valores maiores quando comparadas com *M. albicans* e *M. cipoensis* de ambiente xérico. Na estação seca em três de quatro das espécies foram observadas diferenças no potencial hídrico foliar entre o pré-amanhecer e o meio do dia (*M. albicans* $F_{1,8}=40,17$ $p=0,0002$; *M. cipoensis* $F_{1,8}=13,75$ $p=0,006$; e *M. theaezans* $F_{1,8}=93,73$ $p<0,0001$; Figura 3A). Quando comparado o potencial hídrico entre pré-amanhecer e meio do dia para cada espécie na estação chuvosa em quatro das espécies observamos diferenças significativas (*M. albicans* $F_{1,8}=25,80$ $P<0,00010$; *M. cipoensis* $F_{1,8}=14,95$; $p=0,048$; *M. chamissois* $F_{1,8}=7,35$ $p=0,026$; *M. theaezans* $F_{1,8}=46,93$ $p<0,0001$; Figura 3D).

Em relação à tribo Melastomeae na estação seca apenas *T. martiusiana* de habitat xérico apresentou valores mais negativos de potencial hídrico (Figura 3B). Já no meio do dia, também foram observadas diferenças significativas entre as espécies, sendo que novamente *T. martiusiana* apresentou o menor valor para o meio do dia (Figura 3B). Em duas das espécies foram observadas diferenças significativas entre o pré-amanhecer e o meio do dia (*T. cardinalis* $F_{1,8}=17,06$ $p=0,003$ e *T. candolleana* $F_{1,8}=97,44$ $p=0,0001$; Figura 3B). Na estação chuvosa foi possível observar que espécies de habitat xérico apresentaram valor de potencial hídrico mais negativo quando comparadas com espécies de habitat méxico, tanto no amanhecer como no meio do dia (Figura 3E). Quando comparado o potencial hídrico entre pré-amanhecer e meio do dia para cada espécie

também em quatro das espécies observamos diferenças significativas (*T. martiusiana* $F_{1,8}=22,29$ $p<0,0015$; *T. cardinalis* $F_{1,18}=119,55$ $p<0,0001$; *T. candolleana* $F_{1,8}=18,9$ $p=0,0028$; *T. heteromalla* $F_{1,8}=12,39$ $p<0,007$ Figura 3E).

Em Microlicieae tanto na estação seca quanto na estação chuvosa não observamos clara separação entre espécies de habitat xérico e mésico, mas as espécies foram significativamente diferentes tanto no amanhecer quanto no meio do dia ($F_{3,16}=14,330$ $p<0,0001$; Figura 3C). Comparando-se os dois horários avaliados apenas em *L. confertiflora* não foi observada diferença significativa entre o pré-amanhecer e o meio do dia ($F_{1,8}=4,12$ $p=0,076$; Figura 3C). Na estação chuvosa no pré-amanhecer também observamos diferença entre as espécies com menor valor em *T. laniflora* de habitat xérico ($F_{3,16}=46,89$ $p<0,0001$; Figura 3F). No meio do dia novamente foi observado menor valor em *T. laniflora* ($F_{3,16}=72,92$ $p<0,0001$; Figura 3F). Também em 100% das espécies observamos diferenças significativas entre pré-amanhecer e meio do dia (*L. camposportoana* $F_{1,8}=22,22$ $p=0,0015$; *L. confertiflora* $F_{1,8}=30,11$ $p=0,0006$; *T. laniflora* $F_{1,8}=44,60$ $p=0,0002$, e *T. parviflora* $F_{1,8}=42,39$ $p=0,0002$).

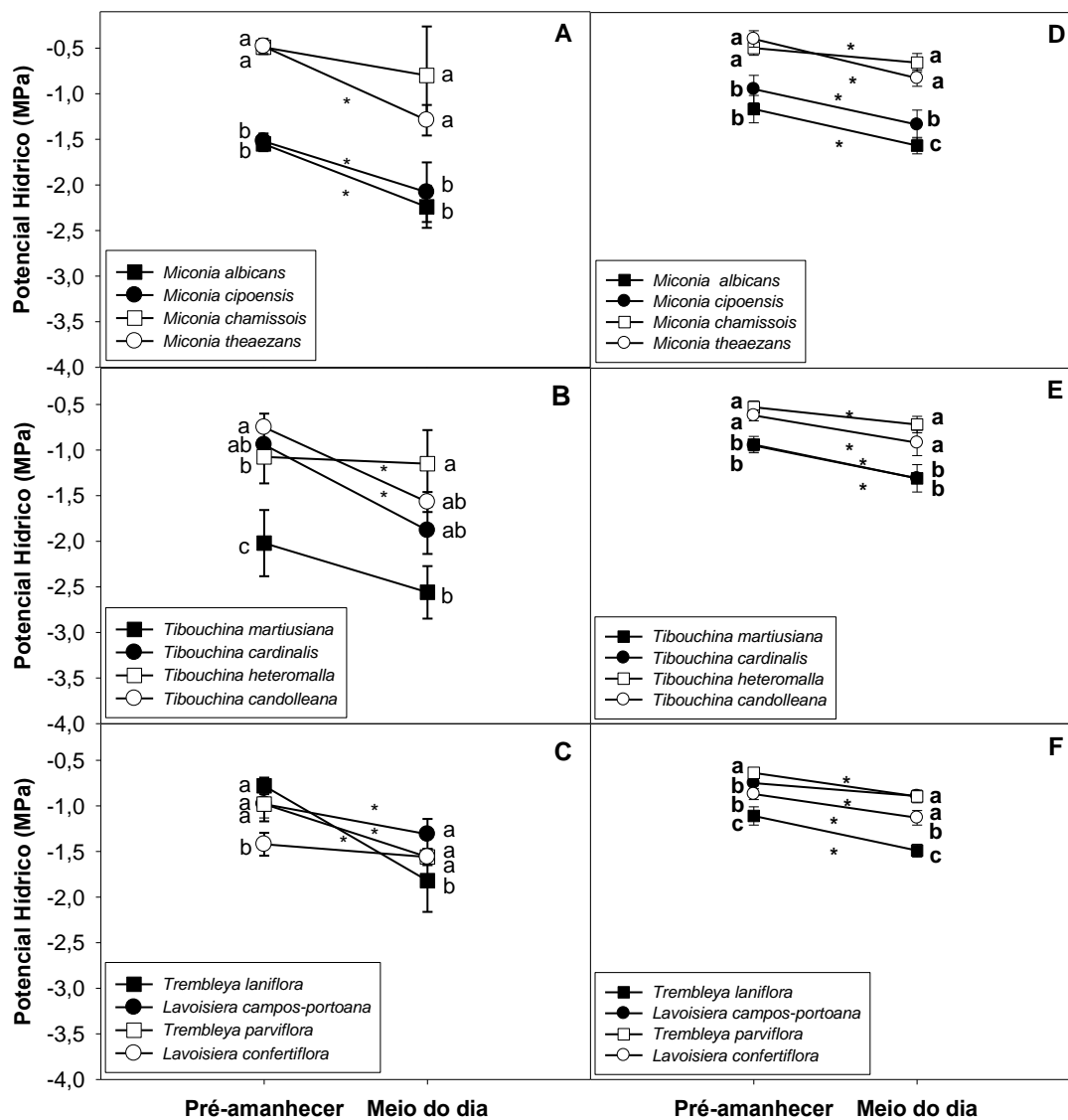


Figura 3. Valores médios e desvio-padrão para o potencial hídrico foliar para as tribos Miconieae, Melastomeae e Microlicieae de Melastomataceae, na estação seca (A, B, C), e estação chuvosa (D, E, F). Símbolos cheios para espécies de habitat xérico e símbolos vazios para espécies de habitat méxico. *One-way* ANOVA, seguida de teste de Tukey $p < 0,05$. Letras diferentes indicam diferença significativa, e * indicam diferença significativa entre os horários do dia dentro de cada espécie.

Ao avaliarmos o Fv/Fm em cada tribo separadamente observamos diferentes respostas na estação seca e chuvosa, sendo que maior variação entre as espécies parece ocorrer mais precisamente na estação seca (Figura 4C). Na tribo Miconieae na estação seca observamos diferenças significativas entre as espécies sendo que *M. cipoensis* foi a espécie mais fotoinibida já no pré-amanhecer ($F_{3,16} = 36,71$ $p < 0,0001$; Figura 4A). Observamos diferenças entre pré-amanhecer e meio do dia para três das espécies (*M. albicans* $F_{1,8} = 11,86$ $p = 0,0088$; *M. chamissois* $F_{1,8} = 10,45$ $p = 0,0120$ e em *M. theaezans* $F_{1,8} = 31,47$ $p = 0,0005$; Figura 4A). Na estação chuvosa as diferenças entre as espécies tanto no pré-amanhecer quanto no meio do dia foram menos pronunciadas, não sendo observadas diferenças significativas entre as espécies (Figura 4D). Mas quando comparamos pré-amanhecer e meio do dia em três das espécies foram observadas diferenças significativas entre os dois horários avaliados (*M. albicans* $F_{1,8} = 71,29$ $p = 0,0001$; *M. chamissois* $F_{1,8} = 13,72$ $p = 0,006$; *M. theaezans* $F_{1,8} = 8,28$ $p = 0,0206$; Figura 4D).

Em Melastomeae na estação seca apenas *T. candolleana* não estava fotoinibida no pré-amanhecer (Figura 4B). No meio do dia *T. martiusiana* e *T. candolleana* foram as espécies com menores valores de Fv/Fm ($F_{3,16} = 9,45$ $p = 0,0007$; Figura 4B). Já comparando pré-amanhecer e meio do dia para cada espécie, observamos decréscimo significativo nos valores de Fv/Fm em *T. candolleana* ($F_{1,8} = 12,03$ $p = 0,0085$; Figura 4B) e em *T. martiusiana* ($F_{1,8} = 39,63$ $p = 0,0002$; Figura 4B). Na estação chuvosa no pré-amanhecer nenhuma das espécies estavam fotoinibidas (Figura 4E). Já no meio do dia *T. heteromalla* e *T. cardinalis* apresentaram valores acima de 0,80, enquanto que *T. candolleana* e *T. martiusiana* apresentaram um decréscimo nos valores de Fv/Fm ($F_{3,16} = 7,60$ $p = 0,0022$; Figura 4E). Em três das espécies foram observadas diferenças significativas entre pré-amanhecer e meio do dia (*T. martiusiana* $F_{1,8} = 13,49$ $p = 0,0063$; *T. cardinalis* $F_{1,8} = 11,45$ $p = 0,009$; *T. candolleana* $F_{1,8} = 117,30$ $p < 0,0001$; Figura 4E).

Em Microlicieae na estação seca no pré-amanhecer *T. parviflora* foi a espécie com maior valor de Fv/Fm, ($F_{3,16}=5,81$ $p=0,006$; Figura 4C). Já no meio do dia *T. parviflora* e *L. campos-portoana* apresentaram valores acima de 0,80, enquanto as demais espécies estavam fotoinibidas (Figura 4C). Em apenas *T. laniflora* foi observada diferença significativa entre pré-amanhecer e meio do dia ($F_{1,8}= 7,72$ $p= 0,024$; Figura 4C). Na estação chuvosa no pré-amanhecer em geral as espécies apresentaram valores acima de 0,80 não estando fotoinibidas para esse horário ($F_{3,16} = 13,69$ $p=0,0001$; Figura 4F). Em apenas *T. parviflora* foi observada diferença significativa entre pré-amanhecer e meio do dia ($F_{1,8} = 25,03$ $p=0,001$; Figura 4F).

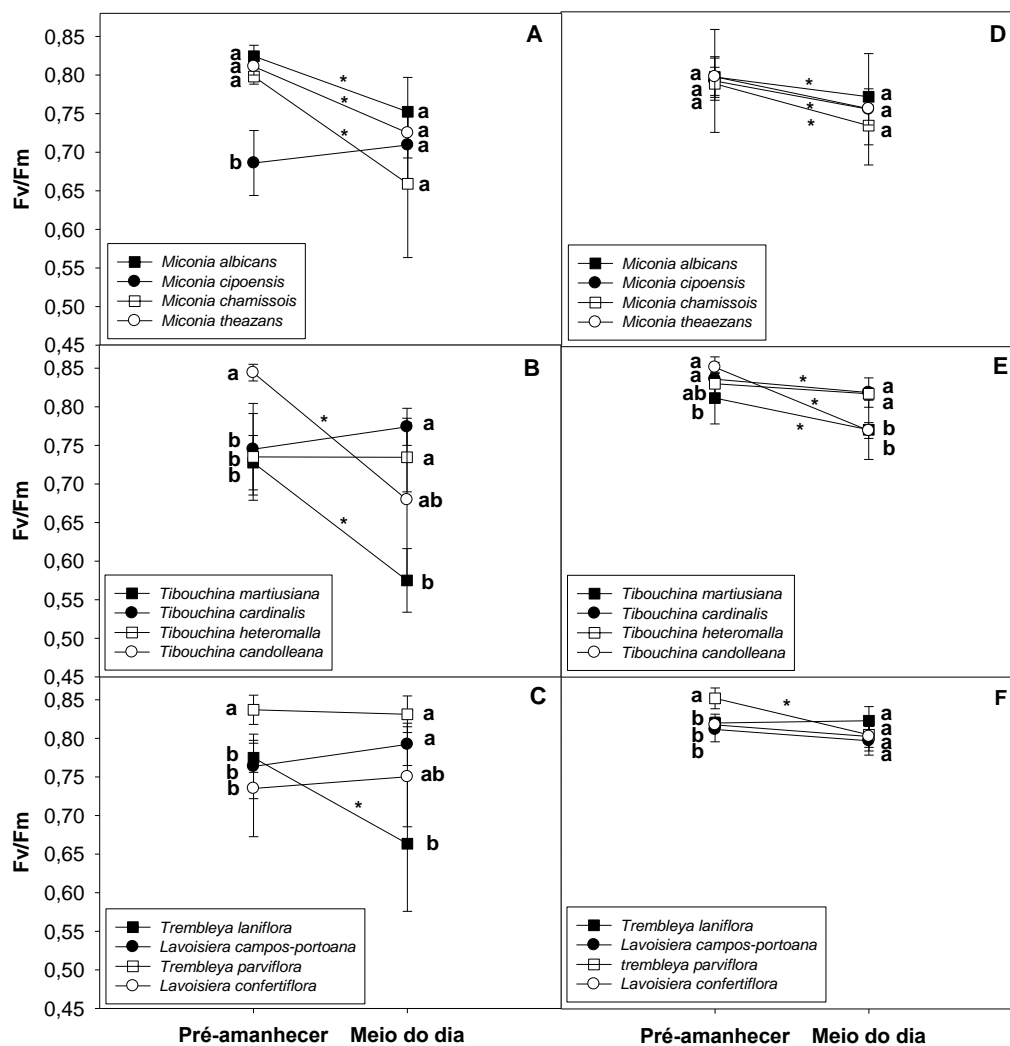


Figura 4. Valores médios e desvio-padrão de Fv/Fm para as tribos Miconieae, Melastomeae e Microlicieae de Melastomataceae, na estação seca (A, B, C), e estação chuvosa (D, E, F). Símbolos cheios para espécies de habitat xérico e símbolos vazios para espécies de habitat méxico. *One-way* ANOVA, seguida de teste de Tukey $p < 0,05$. * indicam diferença significativa entre os horários do dia dentro de cada espécie.

Em relação aos parâmetros obtidos a partir da curva de resposta à luz observamos que em sua maioria os valores foram maiores para espécies de habitat xérico (ETR_{max} ; $PPFD_{90\%}$, $\Delta F/F_{m_{sat}}$ e $\Delta F/F_{m_{50\%}}$). Em apenas $ETR_{90\%}$ e $PPFD_{50\%}$ não foram observadas diferenças significativas entre habitat méxico e xérico (Tabela 3).

Tabela 3. Valores médios±desvio-padrão para variáveis extraídas das curvas de resposta à luz, para os habitats méxico e xérico, seu respectivo valor de teste T de Student, e valor de p.

| Fonte de Variação | Xérico | México | Valor de t | p |
|-------------------------|--------------|--------------|------------|--------|
| ETR_{max} | 156,51±87,4 | 123,50±46,2 | 2,23 | 0,03 |
| $ETR_{90\%}$ | 137,51±81,9 | 111,12±41,54 | 1,96 | ns |
| $PPFD_{90\%}$ | 940,91±500,3 | 728,76±272,2 | 2,16 | 0,039 |
| $PPFD_{50\%}$ | 323,74±198,6 | 276,9±120,4 | 1,3 | ns |
| $\Delta F/F_{m_{sat}}$ | 0,373±0,04 | 0,354±0,04 | 2 | 0,0054 |
| $\Delta F/F_{m_{50\%}}$ | 0,575±0,06 | 0,538±0,07 | 2,59 | 0,014 |

Discussão

Menores valores de potencial hídrico e fotoinibição observados, principalmente, em espécies de habitat xérico na estação seca corroboram com nossa hipótese inicial. Os valores registrados para as espécies nesse estudo estão de acordo com estudos para espécies do Cerrado (Franco *et al.* 2005; Goldstein *et al.* 2004; Rossatto *et al.* 2013) e também condizem outros estudos realizados em espécies localizadas também em campo rupestre (França *et al.* 2012; Castro *et al.* 2015). Diminuição do potencial hídrico foliar na estação seca tem sido observada em inúmeras espécies do Cerrado, especialmente, entre medidas realizadas entre o pré-amanhecer e meio do dia (Franco *et al.* 2005; Bucci *et al.* 2005; Rossatto *et al.* 2013). Os menores valores de potencial hídrico observados em espécies de habitat xérico *M. albicans*, *M. cipoensis*, *T. martiusiana* e *T. laniflora* na estação seca refletem o efeito da sazonal disponibilidade de água típica do Cerrado, onde o conteúdo de água no solo diminui drasticamente, especialmente, nos campos rupestres (Silveira *et al.* 2015). As diferenças mais pronunciadas para o potencial hídrico entre espécies de habitat xérico e méxico observadas em Miconieae na estação seca e chuvosa podem ser resultado da menor disponibilidade de água no solo em habitat xérico (Figura 4, Introdução geral).

Menores valores de F_v/F_m observados para as espécies desse estudo na estação seca podem ser resultado não só da seca sazonal mas também de danos causados ao aparato fotossintético devido ao estresse oxidativo causado pela aumento da radiação nessa época do ano. Lemos-Filho (2000) demonstrou que a seca combinada com alta exposição à luz levou à diminuição nos valores de F_v/F_m em espécies do Cerrado.

Corroborando com nossa hipótese de que espécies de habitat xérico estivessem fotoinibidas, três espécies de Melastomeae e três espécies de Microlicieae já estavam

fotoinibidas no pré-amanhecer na estação seca (Figura 4B e 4C). A fotoinibição pode levar à diminuição da fotossíntese e essas condições ocorrem quando as plantas são expostas à luz excessiva (Maxwell and Johnson 2000). Em condições de alta irradiância, alta temperatura e baixa umidade do ar típico da estação seca em ambientes sazonais, há a necessidade de um balanço entre absorção de luz e dissipação do excesso de energia, e alta irradiância pode levar à fotoinibição crônica durante a estação seca quando as trocas gasosas sofrem uma diminuição mais pronunciada (Franco & Lüttge 2002; Franco 2007).

Na estação chuvosa a maioria das espécies apresentaram valores de F_v/F_m acima de 0,80 indicando ausência de fotoinibição crônica, e pequeno decréscimo nos valores foi observado entre o pré-amanhecer e meio do dia (Figura 4). Também Morales *et al.* (2015) em um estudo com *Vellozia gigantea* encontraram valores médios acima de 0,80 para essa espécie ao longo de vários meses e atribui esse resultado à produção de tocotrienol como protetor do fotossistema II contra danos do estresse oxidativo. Lüttge *et al.* (2007) ao avaliar o desempenho fotossintético em espécies de Velloziaceae do campo rupestre no início da estação chuvosa também não observaram fotoinibição em medidas realizadas em vários horários do dia. Esses resultados mostram que as espécies dos Campos Rupestres dispõem de mecanismos eficientes para lidar com o excesso de luminosidade.

Observamos que espécies de habitat méxico tiveram maior CRA em medidas realizadas no meio do dia (Figura 2G), mas em geral os valores estiveram acima de 70% tanto na estação seca quanto na estação chuvosa. França *et al.* (2012) em um estudo com *L. campos-portoana* mostrou que a espécie limitou a condutância estomática durante um experimento de estresse hídrico e após esse período a espécie apresentou

CRA em torno de 70%, revertendo o CRA para altos valores após reidratação. Dessa forma, valores abaixo de 70% podem ser indicativos de estresse hídrico.

Em relação à suculência, embora esse termo seja comumente utilizado para plantas de ambiente árido, a suculência é um aspecto da fisiologia que pode garantir a sobrevivência da planta em ambientes limitados por água em algum momento (Eggli and Nyffeler 2009). Consideramos essa medida por ser o campo rupestre um ambiente sazonal para a disponibilidade de água, e esperamos que as espécies apresentassem alguma variação na suculência, como de fato foi observado. Entretanto, os valores obtidos foram baixos (Von Willert *et al.* 1990), apesar de que algumas das espécies principalmente de ambiente méxico apresentaram hipoderme, certamente com função de estoque de água (Capítulo 1), e esta estrutura é também encontrada em espécies suculentas (Von Willert *et al.* 1992; Engler & Nyffeler 2009; Ogburn & Edwards 2010).

Em relação às curvas de saturação de luz, os valores altos de ETR_{max} , $ETR_{90\%}$ podem ser resultados da adaptação das espécies para ambiente com alta exposição à luz típica dos campos rupestres. Os resultados encontrados para as espécies avaliadas nesse estudo são muito próximos de resultados encontrados por Castro *et al.* (2015) em um estudo com uma leguminosa endêmica também do campo rupestre em medidas realizadas na mesma época do ano em que foram realizadas as nossas medidas. Já um estudo com Velloziaceae dos campos rupestres realizado por Lüttge *et al.* (2007) no início da estação chuvosa encontraram valores superiores de ETR_{max} e para $PPDF_{sat}$, entretanto, resultados semelhantes ao nosso foi encontrado para $\Delta F/F_{m_{sat}}$ e $\Delta F/F_{m_{50\%}}$. Também França *et al.* (2012) encontraram valores de ETR_{max} próximos aos das nossas espécies ao avaliar *L. campos-portoana* em experimento de estresse hídrico, o que mostra que independente das relações filogenéticas as espécies de campo rupestre mostraram similar resposta à disponibilidade de luz.

Nossas hipóteses foram em geral corroboradas já que observamos que espécies de habitat xérico apresentaram menores valores de potencial hídrico, especialmente, na estação seca, com baixa variação entre as espécies na estação chuvosa. A fotoinibição foi observada em espécies de habitat xérico, principalmente na estação seca e em medidas realizadas no meio do dia. O CRA em geral esteve acima de 70% com espécie chegando a 90% mostrando que possivelmente as espécies tenham maior controle da abertura estomática, principalmente, na estação seca. Baixos valores de suculência observados em espécies de habitat xérico e méxico, mostram que possivelmente essas espécies adotam principalmente estratégias para diminuir a perda de água do que acumular grandes volumes de água no mesofilo. Alta taxa de transporte de elétrons observada principalmente em espécies de habitat xérico condiz com o ambiente com alta exposição à luz e eficiência no uso da luz nesse ambiente.

Material suplementar

Tabela S1. Valores médios±desvio-padrão de Fv/Fm para cada espécie no pré-amanhecer e meio do dia para estação seca e chuvosa.

| Espécies | Horário de medida da Fv/Fm | | | | | |
|---------------------------|----------------------------|---------------|----------|---------------|---------------|---------|
| | Pré-amanhecer | | | Meio do dia | | |
| | Seca | Chuvosa | F-valor | Seca | Chuvosa | F-valor |
| <i>L. campos-portoana</i> | 0,763 ± 0,04 | 0,819± 0,01 | 8,39 * | 0,792 ± 0,02 | 0,797 ± 0,02 | ns |
| <i>L. confertiflora</i> | 0,735 ± 0,06 | 0,818 ± 0,007 | 8,70* | 0,750 ± 0,06 | 0,803 ± 0,01 | 8,70 * |
| <i>T. laniflora</i> | 0,774±0,018 | 0,821±0,003 | 29,47*** | 0,663±0,08 | 0,823±0,02 | 15,96** |
| <i>T. parviflora</i> | 0,837 ± 0,018 | 0,852 ± 0,013 | ns | 0,831±0,023 | 0,805±0,016 | ns |
| <i>M. albicans</i> | 0,824 ± 0,014 | 0,817± 0,006 | ns | 0,752 ± 0,04 | 0,770 ± 0,010 | ns |
| <i>M. cipoensis</i> | 0,686 ±0,04 | 0,821 ±0,03 | 33,19*** | 0,617 ± 0,130 | 0,785 ± 0,02 | 6,26* |
| <i>M. chamissois</i> | 0,798 ± 0,009 | 0,787 ± 0,02 | ns | 0,659±0,09 | 0,733±0,02 | ns |
| <i>M. theaezans</i> | 0,811 ± 0,01 | 0,796± 0,02 | ns | 0,755 ± 0,03 | 0,755 ± 0,02 | ns |
| <i>T. cardinalis</i> | 0,745±0,05 | 0,850±0,007 | 15,59** | 0,774±0,02 | 0,819±0,02 | 11,01 * |
| <i>T. martiusiana</i> | 0,727 ± 0,03 | 0,835 ± 0,006 | 45,4 ** | 0,575 ± 0,04 | 0,771 ± 0,03 | 60,7*** |
| <i>T. candolleana</i> | 0,844 ± 0,01 | 0,852 ± 0,01 | ns | 0,646± 0,08 | 0,770 ± 0,10 | 10,5* |
| <i>T. heteromalla</i> | 0,735± 0,05 | 0,831 ± 0,013 | 13,80** | 0,734 ± 0,04 | 0,818±0,007 | 16,79** |

Tabela S2. Valores médios \pm desvio-padrão de Conteúdo Relativo de Água (CRA%) para cada espécie no pré-amanhecer e meio do dia para estação seca e chuvosa. Letras diferentes denotam diferença significativa entre estação.

| Espécies | Horário de medida do CRA | | | | | |
|---------------------------|--------------------------|------------------|---------|------------------|------------------|---------|
| | Pré-amanhecer | | | Meio do dia | | |
| | Seca | Chuvosa | F-valor | Seca | Chuvosa | F-valor |
| <i>L. campos-portoana</i> | 89,28 \pm 1,81 | 90,60 \pm 4,8 | ns | 80,31 \pm 8,3 | 87,55 \pm 4,5 | ns |
| <i>L. confertiflora</i> | 91,46 \pm 3,7 | 92,24 \pm 5 | ns | 88,09 \pm 4,6 | 92,64 \pm 3,3 | ns |
| <i>T. laniflora</i> | 67,61 \pm 8,70 | 81,07 \pm 7,60 | 20,37** | 66,91 \pm 9,3 | 75 \pm 6,5 | ns |
| <i>T. parviflora</i> | 84,24 \pm 3,4 | 75,36 \pm 2,9 | 89,24** | 79,30 \pm 3,9 | 71,39 \pm 7,59 | ns |
| <i>M. albicans</i> | 76,51 \pm 9,44 | 76,26 \pm 10 | ns | 74,07 \pm 2,94 | 76,0 \pm 3 | ns |
| <i>M. cipoensis</i> | 73,67 \pm 2,6 | 76,20 \pm 2,75 | ns | 74,07 \pm 2,94 | 76 \pm 3 | ns |
| <i>M. chamissois</i> | 79,73 \pm 3,4 | 82,18 \pm 2,94 | ns | 81,86 \pm 8 | 78,72 \pm 4,7 | ns |
| <i>M. theaezans</i> | 74,49 \pm 6,6 | 72,80 \pm 1,7 | ns | 71,21 \pm 2,1 | 70,64 \pm 3 | ns |
| <i>T. cardinalis</i> | 81,89 \pm 6,0 | 80,27 \pm 5,1 | ns | 74,71 \pm 10,7 | 79,27 \pm 4 | ns |
| <i>T. martiusiana</i> | 76,60 \pm 15,6 | 85,77 \pm 7,2 | ns | 75,63 \pm 10,5 | 84,86 \pm 6,0 | ns |
| <i>T. candolleana</i> | 79,55 \pm 5,4 | 78,37 \pm 8,3 | ns | 83,09 \pm 2,71 | 76,28 \pm 5,2 | 6,58* |
| <i>T. heteromalla</i> | 76,61 \pm 8,5 | 87,45 \pm 6,7 | ns | 74 \pm 6,6 | 82,92 \pm 3,8 | 6,78* |

Tabela S3. Valores médios e desvio-padrão de Suculência para cada espécie no pré-amanhecer e meio do dia para estação seca e chuvosa.

| Espécies | Horário de medida da Suculência | | | | | |
|---------------------------|---------------------------------|-----------|-----------|-------------|-----------|---------|
| | Pré-amanhecer | | | Meio do dia | | |
| | Seca | Chuvosa | F-valor | Seca | Chuvosa | F-valor |
| <i>L. campos-portoana</i> | 1,78±0,48 | 2,45±0,72 | ns | 2,36±0,66 | 2,39±0,80 | ns |
| <i>L. confertiflora</i> | 3,0±1,2 | 5,65±0,74 | 13,69** | 3,23±0,66 | 4,55±0,36 | 15,22** |
| <i>T. laniflora</i> | 1,32±0,2 | 1,21±0,09 | ns | 1,42±0,29 | 0,99±0,14 | 8,4 * |
| <i>T. parviflora</i> | 2,24±0,5 | 2,35±0,4 | ns | 2,48±0,54 | 2,31±0,36 | ns |
| <i>M. albicans</i> | 1,52±0,43 | 1,08±0,16 | ns | 1,41±0,14 | 1,29±0,13 | ns |
| <i>M. cipoensis</i> | 1,60±0,33 | 1,42±0,27 | ns | 1,48±0,48 | 1,51±0,17 | ns |
| <i>M. chamissois</i> | 2,31±0,67 | 1,80±0,34 | ns | 2,02±0,31 | 1,77±0,11 | ns |
| <i>M. theaezans</i> | 2,51±0,55 | 3,57±0,33 | 13,60** | 2,69±0,60 | 3,41±0,18 | 6,57* |
| <i>T. cardinalis</i> | 1,45±0,35 | 1,83±0,34 | ns | 1,42±0,32 | 1,78±0,10 | 5,35* |
| <i>T. martiusiana</i> | 2,46±0,77 | 6,0±0,70 | 59,51*** | 3,37±1,40 | 4,27±0,43 | ns |
| <i>T. candolleana</i> | 1,94±0,20 | 1,99±0,23 | ns | 1,24±0,40 | 2,0±0,13 | 16,2** |
| <i>T. heteromalla</i> | 1,79±0,21 | 3,0±0,15 | 111,67*** | 1,79±0,42 | 2,37±0,25 | 6,70* |

Referências bibliográficas

- Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, de Moraes JLG, Sparovek G. 2014. Köppens climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22: 711-728.
- Barrs HD, Weatherley PE. 1962. A Re-Examination of the relative turgidity technique for estimating water deficits in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences* 15(3): 413-428.
- Bucci SJ, Goldstein G, Meinzer FC, Franco AC, Campanello P, Scholz FG. 2005. Mechanisms contributing to seasonal homeostasis of minimum leaf water potential and predawn disequilibrium between soil and plant water potential in Neotropical savanna tree. *Trees* 19: 296-304.
- Castro SAB, Sá CEM, Mourão FA, Duarte HM, Fernandes GW, Lemos-Filho JP. 2015. Ecophysiological performance of a threatened shrub under restored and natural conditions in harsh tropical mountain environments. *Acta Botanica Brasílica* (no prelo).
- Engler R, Randin CF, Vittoz P, Czaka T, Beniston M, Zimmernann NE, Guisan A. 2009. Predicting future distributions of mountain plants under climate change: does dispersal capacity matter? *Ecography* 32: 34-45.
- França MGC, Prados LMZ, Lemos-Filho JP, Ranieri BD, Vale FHA. 2012. Morphophysiological differences in leaves of *Lavoisiera campos-portoana* (Melastomataceae) enhance higher drought tolerance in water shortage events. *Journal Plant Research* 125:85-92.
- Franco AC, Matsubara S, Orthen B. 2007. Photoinhibition, carotenoid composition and the co-regulation of photochemical and non-photochemical quenching in neotropical savanna trees. *Tree Physiology* 27: 717-72.
- Franco AC, Bustamante M, Caldas LS, Goldstein G, Meinzer FC, Kozovits AR, Rundel P, Coradin VTR. 2005. Leaf functional traits of Neotropical savanna trees in relation to seasonal water deficit. *Trees* 19: 326-335
- Franco AC, Lüttge U. 2002. Midday depression in savanna trees: coordinated adjustments in photochemical efficiency, photorespiration, CO₂ assimilation and water use efficiency. *Oecologia* 131: 356-365.
- Genty B, Harbinson J, Baker, RN. 1990. Relative quantum efficiencies of the two photosystems of leaves in photorespiratory and non-photorespiratory conditions. *Plant Physiology Biochemistry* 28: 1-10.

- Goldstein G, Meinzer F, Bucci S, Scholz FG, Franco AC, Hoffmann WA. 2008. Water economy of Neotropical savanna trees: six paradigms revisited. *Tree Physiology* 28: 395-404.
- Goldstein G, Meinzer F, Bucci S, Scholz F, Franco AC, Hoffmann WA. 2004. Water economy of Neotropical savanna trees: six paradigms revisited. *Tree Physiology* 28: 395-404.
- Lemos Filho JP. 2000. Photoinhibition in three species of the savanna (*Annona crassifolia*, *Eugenia dysenterica* and *Campomanesia adamantium*) in the dry and rainy season. *Revista Brasileira de Botânica* 23: 45-50.
- Lüttge U, Mundayatan H, Fernandes GW. et al..1998. Photosynthesis of mistletoes in relation to their hosts at various sites in tropical Brazil. *Trees* 12: 167-174.
- Lüttge U, Duarte HM, Scarano FR, Mattos EA, Cavalin PO, Franco AC, Fernandes GW. 2007. Physiological ecology of photosynthesis of five sympatric species of Velloziaceae in the rupestrian fields of Serra do Cipó, Minas Gerais, Brazil. *Flora* 202 : 637- 646.
- Maxwell K, Johnson GN. 2000. Chlorophyll fluorescence: a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659-668.
- Morales M, Garcia QS, Bosch SM. 2015. Ecophysiological response to season variations in water availability in the arborescent, endemic plant *Vellozia gigantea*. *Tree Physiology* 35: 253-265.
- Morales M, Garcia QS, Silva AIS, Silva MC, Bosch SM. 2014. Tocotrienols in *Vellozia gigantea* leaves: occurrence and modulation by seasonal and plant size effects. *Planta* 240: 437-446.
- Ogburn RM, Edwards E. 2012. Quantifying succulence: a rapid, physiologically meaningful metric of plant water storage. *Plant, Cell and Environment* 35: 1533-1542.
- Oliveira R, Galvão HC, Campos MCR et al. 2015. Mineral nutrition of campos rupestres plant species on contrasting nutrient-impooverished soil types. *New Phytologist* 205: 1183-1194.
- Rascher U, Liebig M, Lüttge U. 2000. Evaluation of instant light-response curves of chlorophyll fluorescence parameters obtained with a portable chlorophyll fluorometer on site in the field. *Plant, Cell and Environmental*. 23: 1397-1405.

- Rossatto DR, Hoffmann WA, Silva LCR, Haridasan M, Stenberg LSL, Franco AC. 2013. Seasonal variation in leaf traits between congeneric savanna and forest trees in Central Brazil: implications for forest expansion into savana. *Trees* 27: 1139-1150.
- Silveira FAO, Negreiros D, Barbosa NPU et al. 2015. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. *Plant and Soil* DOI 10.1007/s11104-015-2637-8.
- Von Willert DJ, Eller BM, Werger MJA, Brinckamann E. 1990. Desert succulents and their life strategies. *Vegetatio* 90:133-143.

Capítulo 3

**Tolerância do PSII ao calor em
Melastomataceae do campo rupestre: efeitos
da sazonalidade e do habitat**

Tolerância ao calor do PSII em Melastomataceae do campo rupestre: efeitos da sazonalidade e do habitat

Resumo

Uma elevação da temperatura de 10 a 15°C acima da temperatura ambiente já pode ser considerada responsável por causar estresse térmico acarretando vários danos ao aparato fotossintético, com conseqüente impacto no estabelecimento, crescimento e reprodução. O Campo Rupestre é um ecossistema ímpar por sua alta diversidade de espécies e complexidade de tipos de solos que determinam um mosaico de habitats méxico e xéricos. Nesse trabalho avaliamos a termotolerância de 12 espécies de Melastomataceae dos Campos Rupestres. Hipotetizamos que espécies de habitat xéricos são mais termotolerantes do que espécies de habitat méxico e que a termotolerância pode ser maior na estação seca do que na estação chuvosa, estando associada com a sazonalidade hídrica dos campos rupestres. A termotolerância foi avaliada no amanhecer e meio do dia na estação seca e chuvosa de 2014, através de rendimento quântico potencial do fotossistema II (Fv/Fm) de folhas de espécies submetidas ao aumento da temperatura a partir de 35°C, em um banho termostático com circulação de água, sendo as medidas realizadas a cada aumento de 2°C, até cerca de 65°C. Avaliamos também o potencial hídrico foliar e Conteúdo Relativo de Água para avaliar a relação entre *status* hídrico e termotolerância. Observamos que a termotolerância apresenta variação sazonal e a maioria das espécies de habitat xérico foram mais termotolerantes. A termotolerância em geral foi maior na estação seca, com decréscimo significativo na estação chuvosa para a maioria das espécies avaliadas. Também observamos que a termotolerância foi maior em espécies com potenciais hídricos mais negativos na estação seca. Nossos resultados mostraram que a termotolerância das espécies avaliadas tem um caráter sazonal, tendo relação direta com o *status* hídrico foliar. Esses resultados são pioneiros

considerando que essas espécies ocorrem em um ecossistema montano, sendo esse altamente ameaçado e susceptível às mudanças climáticas globais.

Palavras chave: aquecimento global, Cerrado, ecossistemas montanos, fluorescência da clorofila, *status* hídrico.

Heat tolerance in Melastomataceae of campos rupestres: effects of seasonality and microhabitat.

Abstract

A rise in temperature of 10 to 15°C above ambient is already known to cause thermic stress resulting in a variety of damage to the photosynthetic apparatus, with consequent impacts to plant establishment, growth and reproduction of plants. Campos rupestres (rocky fields) is a unique ecosystem due to its high species diversity and complexity of soil types that determine a mosaic of mesic and xeric habitats. In this work we evaluate the thermotolerance of 12 species of plants of the family Melastomataceae of the campos rupestres and hypothesize that: 1) species of xeric habitats are more thermotolerant than species of mesic habitats; and 2) thermotolerance is higher in the dry season than in the rainy season, since it is associated with the hydric seasonality of campos rupestres. Thermotolerance was evaluated prior to dawn and at midday in both the dry and rainy seasons of 2014 by quantum yield of photosystem II (F_v/F_m). Leaves were subjected, in a thermostatic bath with circulating water, to increasing temperatures from 35°C to about 65°C, with measurements being made every 2°C. Measurements of leaf water potential and relative water content were also made in order to assess the relationship between hydric status and thermotolerance. We found that thermotolerance varied seasonally, and most of the species of xeric habitats were more tolerant. In general, thermotolerance was higher in the dry season, with a significant decrease in the rainy season for the majority of the species assessed. We also observed that thermotolerance was higher with the negative water potentials of the dry season. Our results show that the thermotolerance of the studied species have a seasonal character with a direct relationship with leaf hydric status. These results are pioneering

considering that these species occur in a montane ecosystem that is highly threatened and susceptible to global climate change.

Key words: Cerrado, chlorophyll fluorescence, global warming, montane ecosystems, hydric status.

Introdução

Em climas tropicais, o excesso de luz e altas temperaturas são frequentemente fatores que limitam o crescimento das plantas (Lawlor & Uprety 1993; Sinsawat *et al.* 2004). Em geral, uma elevação da temperatura de 10 a 15°C acima da temperatura ambiente já pode ser considerada responsável por causar estresse térmico (Wahid *et al.* 2007). As plantas têm diferentes domínios de temperatura, ou “envelopes climáticos” que inicialmente determinam sua distribuição geográfica (Ducruet *et al.* 2006). Com o progressivo aumento da temperatura do ar esses envelopes climáticos tornam-se deslocados para regiões mais frias forçando as espécies a se deslocarem para outras áreas além da sua distribuição atual (Gian-Reto *et al.* 2002; Corlett & Westcott 2013).

A faixa de temperatura considerada ótima para a fotossíntese em plantas C3 está entre 18°C e 30°C, enquanto que temperaturas acima de 30°C são consideradas zonas de aquecimento induzindo mudanças estruturais importantes na membrana do tilacóide e reorganização das vias de transferências de elétrons (Berry and Björkman 1980; Havaux 1992; 1996; Ducruet *et al.* 2006). Conseqüentemente, acima de um determinado limite, aumentos na temperatura resultam em danos no aparato fotossintético e diminuição das taxas fotossintéticas (Berry and Björkman 1980). Esses limites foram definidos com base em espécies de clima temperado de forma que espécies de ambientes tropicais e sujeitas a interações com outros tipos de estresses podem apresentar variações na tolerância do aparato fotossintético a altas temperaturas.

O estresse pelo aumento da temperatura provoca alteração na fluidez da membrana, sobretudo, na membrana do tilacóide, sendo esse um dos principais locais de percepção de injúrias causadas pelo estresse térmico (Havaux 1996; Epron 1997; Horváth *et al.* 1998; Örvar *et al.* 2000; Los & Murata 2004; Sharley 2005; Dias *et al.* 2010; Mittler *et al.* 2012). O estresse por calor pode levar à dissociação do complexo de

geração de oxigênio, resultando em um desequilíbrio no fluxo de elétrons entre o sítio de produção de oxigênio e o PSII (Cao & Govindjee 1990; Havaux 1993; Barra *et al.* 2005). Altas temperaturas também podem levar à dissociação do manganês ligado ao complexo de geração de oxigênio, além de causar danos na proteína D1 (De Las Rivas & Barber 1997). Além disso, a dissociação do sistema antena de captação de luz, a perda da atividade fotossintética causada pela inativação do lado aceptor do PSII e redução na taxa de transporte de elétrons podem ocorrer a altas temperaturas (40-42°C) (Berry & Björkman 1980; Allakhverdiev *et al.* 2008). A assimilação de carbono também é sensível a temperaturas elevadas, podendo ser fortemente inibida sobre moderada temperatura (Berry & Björkman 1980; Sharkey 2005).

Um aumento da resistência ao calor mesmo em poucos graus pode ser extremamente importante para a sobrevivência das plantas uma vez que a inativação do PSII pode ocorrer em uma pequena variação da temperatura (Havaux 1992). A interação entre vários tipos de estresse (alta temperatura, estresse hídrico e alta luminosidade) podem resultar em complexas respostas das plantas (Gamon & Pearcy 1990; Havaux 1992; Ladjal *et al.* 2000; Mittler 2006). Em condições de campo, o estresse térmico é frequentemente associado com outros tipos de restrições abióticas, tais como o estresse hídrico e luz excessiva, especialmente em regiões áridas, ou semi-áridas, ou com variação sazonal na disponibilidade de água (Havaux 1992; Lu & Zhang 1999; Mittler 2006; Zavalloni *et al.* 2009). O estresse hídrico pode aumentar substancialmente a tolerância do PSII a altas temperaturas, sendo observado um aumento em vários graus na temperatura em que se observam danos ao PSII (Havaux 1992; Ladjal *et al.* 2000; Gimeno *et al.* 2008; Gonzales-Cruz & Pastenes 2012). Uma adaptação dinâmica e rápida do fotossistema para variações na temperatura em condições de campo é talvez a

mais importante característica da termotolerância do que a intrínseca resistência do PSII (Valladares & Pearcy 1997).

A combinação de estresse hídrico sazonal, alta luminosidade e alta temperatura são condições tipicamente comuns dos campos rupestres, além da baixa disponibilidade de nutrientes (Silveira *et al.* 2015). Os campos rupestres são especialmente importantes devido sua alta diversidade de espécies e endemismos (Giulietti *et al.* 1997), sendo também um ecossistema altamente ameaçado. Nós investigamos nesse trabalho a tolerância do PSII a altas temperaturas em espécies de campo rupestre utilizando medidas de fluorescência da clorofila, uma técnica que tem sido amplamente utilizada para avaliar resposta do aparato fotossintético ao aumento da temperatura (Yamada *et al.* 1996; Epron 1997; Lu & Zhang 2000; Weng & Lai 2005; Godoy *et al.* 2011; Chaves *et al.* 2015). Considerando que a tolerância a altas temperaturas pode também estar associada com o estresse hídrico, avaliamos também a relação entre *status* hídrico (conteúdo relativo de água, suculência e potencial hídrico foliar) e termotolerância.

A variação na disponibilidade hídrica no campo rupestre ocorre em escala temporal e espacial. A marcante sazonalidade climática com uma estação seca que se prolonga por seis meses associada à complexidade do mosaico de solos com diferenças marcantes na granulometria, profundidade e fertilidade, distribuídos em uma topografia acidentada determina ocorrência de habitats mais xéricos ou mais méxicos (Silveira *et al.* 2015).

Para esse estudo selecionamos 12 espécies de Melastomataceae, umas das famílias mais representativas nos campos rupestres, além de ser dominante na região Neotropical (Silveira *et al.* 2013, 2015). No campo rupestre, existe uma segregação espacial na ocorrência das diferentes espécies de Melastomataceae, algumas ocorrendo exclusivamente em habitats mais xéricos e outras somente ocorrem em habitats mais

úmidos. A opção para a escolha deste grupo de plantas permitiu eliminar o viés filogenético, uma vez que foi possível comparar espécies congênicas que ocorrem em diferentes habitats. Hipotetizamos que: 1) espécies adaptadas ao ambiente xéricos são mais termotolerantes quando comparadas com espécies de ambiente méxico; 2) a termotolerância é maior na estação seca que na chuvosa; 3) que existe uma relação entre traços funcionais foliares e a termotolerância.

Material e Métodos

Área de estudo e espécies selecionadas

Este estudo foi desenvolvido na Serra do Cipó, localizada na porção sul da Cadeia do Espinhaço, sudeste do Brasil. Nessa região o clima é classificado como Cwb na classificação Köppen, com verões chuvosos e invernos secos, com uma precipitação média anual de 1500 mm (Alvares *et al.* 2014). Na área de estudo, foram coletados dados de dois anos consecutivos em duas estações meteorológicas automáticas instaladas em dois habitats um com 1000 m de altitude e outro a 1200 m de altitude. O ano de 2014 apresentou uma estação seca mais prolongada que 2013, com sete meses de precipitação inferior a 50 mm (Figura 3, Introdução geral). A temperatura média mensal máxima ocorreu no verão com valores próximos a 23°C na estação posicionada a 1000m. Por outro lado, a temperatura média mensal não ultrapassou 22°C. A menor temperatura média mensal foi registrada em Julho de 2014 (16,4°C) (Figura 3, Introdução geral).

Nesse estudo, as áreas de ambiente xéricos foram caracterizadas por serem áreas de afloramentos rochosos, com solo raso e arenoso ou pedregoso e alta luminosidade, onde plantas desenvolvem-se diretamente sobre as rochas ou em microsítios onde há condições para fixação das raízes. As áreas méxicas foram caracterizadas como áreas

localizadas ao longo de córregos e nascentes, com vegetação mais densa, e variação na disponibilidade de luz resultante do sombreamento causado pelas espécies presentes nesse local (Figura 1, Introdução geral). Os dados de umidade do solo em habitat xérico e méxico caracterizando a maior aridez no primeiro constam da Figura 4 (Introdução geral).

Foram selecionadas quatro espécies de cada um das três tribos de Melastomataceae: Melastomeae, Miconieae e Microlicieae. Para controlar o efeito da filogenia, dentro de cada tribo, escolhemos dois pares de espécies congênicas, cada par representando uma espécie de cada habitat (Tabela 1). Para cada espécie foram marcados cinco indivíduos que foram utilizados para a coleta de todas as variáveis estudadas.

Tabela 1. Espécies de Melastomataceae avaliadas na termotolerância, seu respectivo habitat na Serra do Cipó – MG.

| Tribos | Espécies | Habitat |
|---------------|-----------------------------------|----------------|
| Melastomeae | <i>Tibouchina martiusiana</i> | xérico |
| | <i>Tibouchina cardinalis</i> | xérico |
| | <i>Tibouchina heteromalla</i> | mésico |
| | <i>Tibouchina candolleana</i> | mésico |
| Miconieae | <i>Miconia albicans</i> | xérico |
| | <i>Miconia cipoensis</i> | xérico |
| | <i>Miconia chamissois</i> | mésico |
| | <i>Miconia theaezans</i> | mésico |
| Microlicieae | <i>Lavoisiera campos-portoana</i> | xérico |
| | <i>Trembleya laniflora</i> | xérico |
| | <i>Lavoisiera confertiflora</i> | mésico |
| | <i>Trembleya parviflora</i> | mésico |

Avaliação da termotolerância do PSII

Após a medição do Fv/Fm *in situ* foram utilizados os mesmos ramos de cada indivíduo, colocados em sacos plásticos e acondicionados em isopor e levados imediatamente ao laboratório. De cada ramo, foram coletadas duas folhas completamente expandidas, sem danos causados por herbívoros e retirados um disco de cada folha com área de 2 cm², totalizando 10 discos por espécie. A avaliação da termotolerância foi conduzida conforme metodologia descrita por Chaves *et al.* (2015) utilizando um banho termostático (214D2, QUIMIS, Diadema, Brasil). Os discos

foliares foram submetidos a um incremento de temperatura de 35 a 65°C, com aumentos graduais de 1°C a cada três minutos. Os valores de Fv/Fm foram obtidos em intervalos de 2°C. Um termopar conectado a um termômetro digital (TD-880, ICEL, Manaus, Brasil) foi utilizado para medir a temperatura das amostras. Foram calculadas as temperaturas de decaimento em 50% (T50) nos valores de Fv/Fm, a partir de um ajuste de equação sigmoideal entre os dados de Fv/Fm a cada incremento de temperatura (Godoy *et al.* 2011; Chaves *et al.* 2015).

O *status* hídrico das plantas em que foram coletadas as folhas para a avaliação da termotolerância foi avaliado pela determinação do potencial hídrico no pré-amanhecer e ao meio dia, bem como, para os valores do conteúdo relativo de água e suculência foliar. A metodologia empregada está descrita no Capítulo 2. Para obter os valores de Área Foliar Específica (AFE), quatro folhas maduras, expandidas sem sinais de ataque por herbívoros e patógenos foram coletadas de cada indivíduo. Estas folhas foram fotografadas com câmera digital Cyber-shot (Sony corp. Japan), com uso de escala e a área foliar foi calculada usando o programa Sigma Scan Pro5. O material foi levado à estufa para secagem à 70°C por no mínimo 48 horas, até atingir peso constante. Os valores médios mais o desvio-padrão são apresentados na tabela S2 do material suplementar. No campo também foram obtidos os valores de rendimento quântico potencial do fotossistema II (Fv/Fm) conforme descrição no Capítulo 2.

Avaliação da plasticidade fenotípica

A plasticidade fenotípica para os dados de T50 foi avaliada calculando-se o *Relative Distance Plasticity Index* (RDPI) (Valladares *et al.* 2006). Para o cálculo do RDPI foi considerado os valores das distâncias relativas entre pares de indivíduos de cada espécie na estação seca e chuvosa.

O RDPI varia de 0 (zero) (nenhuma plasticidade) a 1(um) (plasticidade máxima) e é calculado segundo a fórmula: $RDPI = \sum(d_{ij} \rightarrow i'j' / (x_{ij'} + x_{ij}) / n$ onde j e j' é o indivíduo avaliado na estação i seca e i' chuvosa, e n o número de indivíduos em cada espécie.

Análise estatística

Comparações da termotolerância entre estações e ambientes foram realizadas através de *two-way* ANOVAs seguidas do teste de Tukey. Para os valores de T50 comparações foram feitas entre espécies dentro de cada estação do ano através de *one-way* ANOVA, e também para comparações de cada espécie entre estação seca e chuvosa, tanto no pré-amanhecer e meio do dia. Todas essas análises foram realizadas com o software JMP® 5.0 (SAS Institute, Inc. 2002).

Foi realizado um modelo linear generalizado (GLM) no qual o T50 foi a variável dependente e potencial hídrico, Fv/Fm, CRA, suculência, ambiente e estação foram as variáveis independentes. O modelo mínimo foi obtido através da retirada de variáveis não significativas e observando-se a variação de *deviance*, e essa análise foi realizada no ambiente R (R Development Core Team 2014). A Análise de Componentes Principais (PCA) foi realizada com o software Past.3.x (Hammer Ø 2014). Para todas as análises foram estabelecidos os valores de significância de $\alpha = 0,05$.

Resultados

Avaliação da termotolerância do PSII

A análise de variância (Tabela S1, material suplementar) mostrou diferenças significativas entre as estações e ambientes tanto no pré-amanhecer quanto no meio do dia. Os valores de T50 para a maioria das espécies atingiu valores superiores a 50°C e variou entre a estação seca e chuvosa para a maioria das espécies avaliadas (Figura 1). Em geral, as espécies foram mais termotolerantes na estação seca, sendo observada queda significativa da termotolerância na estação chuvosa. Além disso, a termotolerância do PSII foi significativamente maior nas espécies de habitat xéricos (Figura 1).

Conforme pode ser observado na Tabela S2 (material suplementar), na estação seca *T. heteromalla*, uma espécie de ambiente méxico foi quem apresentou menor valor de T50, enquanto que *T. martiusiana*, que também ocorre em ambiente mais xérico, foi a que apresentou maior valor (59,1°C), também no pré-amanhecer na estação seca. Na estação chuvosa, o menor valor de T50 registrado foi para *T. candolleana* (45,3°C) no meio do dia, e maior valor de T50 (55,9°C) foi registrado para *M. cipoensis* no pré-amanhecer. Em nove espécies, todas de ambiente xérico, e em três espécies de ambiente méxico (*L. confertiflora*, *T. parviflora*, *M. theaezans*) foram observados valores máximos de termotolerância no meio do dia na estação seca, quando comparado com o meio do dia na estação chuvosa. Em apenas três espécies (*M. chamissois*, *T. candolleana*, *T. heteromalla*) todas de ambiente méxico, a termotolerância foi menor no meio do dia na estação seca (Tabela S2, material suplementar).

Ao avaliar a tolerância do PSII ao aumento da temperatura em espécies de Miconieae no pré-amanhecer, na estação seca, não observamos diferença entre as espécies ($F_{3,16}=3,38$ $p=0,054$; Figura 1A). Já na estação chuvosa foi observada diferença

significativa ($F_{3,16} = 53,55$ $p=0,001$) sendo que as espécies *M. theaezans* (54,8°C) e *M. chamissois* (54,2°C) foram mais termotolerantes quando comparadas com seus pares de ambiente xérico, *M. albicans* (52°C) e *M. cipoensis* (48°C). Em *M. cipoensis* foi verificado uma diminuição de cerca de 6°C nos valores de T50 da estação seca para a estação chuvosa ($F_{1,8}=206,20$ $p<0,0001$; Figura 1A). Já no meio do dia os valores de T50 na estação seca foram significativamente diferente entre as espécies ($F_{3,16}=10,09$ $p=0,0006$) sendo que *M. cipoensis* (55,4°C) e *M. albicans* (51,5°C), ambas de ambiente xérico, foram as espécies mais termotolerantes, seguidas de *M. chamissois* (50,6°C) e *M. theaezans* (48,5°C) de ambiente méxico (Figura 1D). Na estação chuvosa a termotolerância também foi diferencial entre as espécies sendo observado um significativo aumento na termotolerância em *M. chamissois* (50,6°C para 53,9°C) e uma queda de 5,2°C nos valores de *M. cipoensis* (55,4°C para 50,2°C) ($F_{3,16} = 44,29$ $p=0,0001$; Figura 1D).

Em relação à tribo Melastomeae foi observada diferença significativa entre as espécies no pré-amanhecer na estação seca, sendo *T. martiusiana* (56,5°C) e *T. cardinalis* (53,7°C) as mais termotolerantes, enquanto *T. candolleana* (52,7°C) e *T. heteromalla* (49,4 °C) foram menos termotolerantes ($F_{3,16}= 27,14$ $p<0,0001$; Figura 1B). Na estação chuvosa *T. martiusiana* apresentou decréscimo de 3°C nos valores de T50 quando comparados com os da estação seca. Entretanto, mesmo com essa redução, juntamente com *T. candolleana* (52,1°C), comparativamente foram mais termotolerantes que *T. heteromalla* (50,2°C) e *T. cardinalis* (48,8°C). Nas espécies de ambiente xérico foi observado uma considerável diminuição na termotolerância da estação seca para a chuvosa, com decréscimo de cerca de 5°C para *T. cardinalis* ($F_{1,8}=43,16$ $p=0,0002$) e 3,5°C em *T. martiusiana* ($F_{1,8}=12,61$ $p=0,007$; Figura 1B). Já em *T. candolleana* e *T. heteromalla* não foi observada diferença entre a estação seca e

chuvosa (Figura 1B). No meio do dia também foram observadas diferenças significativas entre as espécies ($F_{3,16}=17,77$ $p<0,0001$) sendo que *T. cardinalis* (55,3°C) e *T. martiusiana* (53,4°C) foram as espécies mais termotolerantes e *T. candolleana* (49,5°C) e *T. heteromalla* (48,5 °C) as espécies menos termotolerantes na estação seca para esse horário (Figura 4E). Na estação chuvosa as espécies também apresentaram diferença na termotolerância ($F_{3,16}=8,09$ $p=0,0017$). *T. heteromalla* (52,8°C) apresentou aumento nos valores de T50 em relação ao observado na estação chuvosa sendo a espécie mais termotolerante, seguida de *T. cardinalis* (51,6°C), *T. martiusiana* (50,4°C) e *T. candolleana* (47,6°C) (Figura 1E).

Em relação à tribo Microlicieae não se observou diferenças significativas para a termotolerância entre as espécies na estação seca no pré-amanhecer (Figura 1C). Entretanto, na estação chuvosa foram observadas diferenças significativas entre as espécies ($F_{3,16}=8,70$ $p=0,0012$), sendo que *L. confertiflora* (51,9 °C), *T. parviflora* (51,2°C) e *L. campos-portoana* (51,3°C) foram as espécies mais termotolerantes (Figura 1C). Em *L. campos-portoana* (diminuição em 2,7°C; $F_{1,8}=7,15$ $p=0,028$) e em *T. parviflora* (diminuição em 2,2°C; $F_{1,8}=61,72$ $p<0,0001$) foram observadas diferenças significativas entre a estação seca e chuvosa para medidas realizadas no pré-amanhecer. No meio do dia, também foram observadas diferenças nos valores de T50 entre as espécies ($F_{3,16}=12,93$ $p=0,0002$), sendo que a termotolerância foi maior em *L. confertiflora* (54,8°C), e menor em *T. laniflora* (50°C) (Figura 1F). Comparando-se com a estação seca, na estação chuvosa foi observado diminuição na termotolerância em *L. campos-portoana* (diminuição em 2,5 °C, $F_{1,8}=10,57$ $p=0,011$), *Lavoisera confertiflora* (diminuição em 4,8 °C, $F_{1,8}=142,07$ $p<0,0001$) e *T. parviflora* (diminuição em 3,4 °C, $F_{1,8}=11,38$ $p=0,009$; Figura 1F).

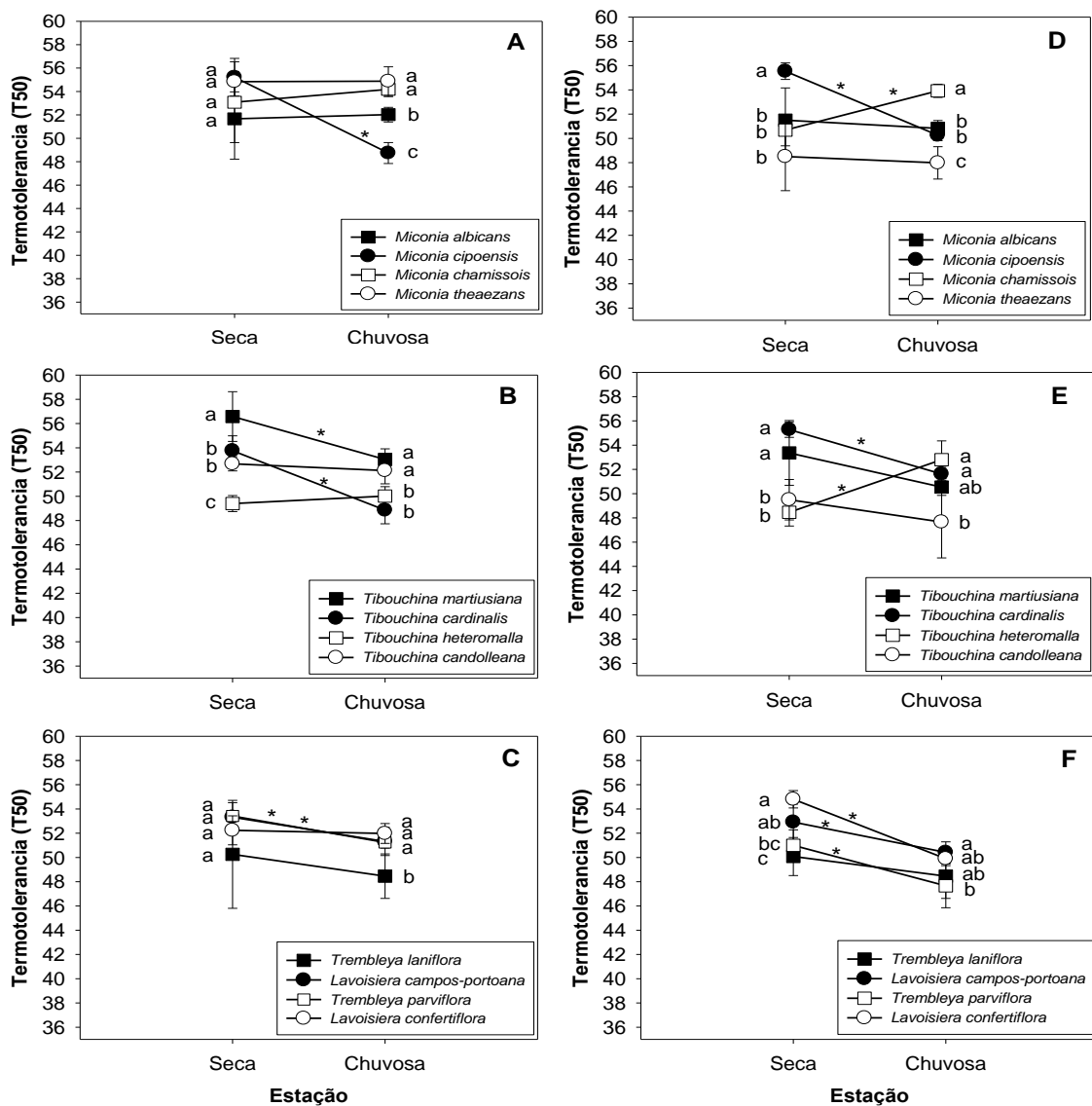


Figura 1. Valores médios e desvio padrão da termotolerância do PSII para cada espécie entre estação seca e chuvosa no amanhecer (A, B, C) e meio-do-dia (D, E, F). Símbolos cheios (espécies de ambiente xérico), símbolos vazios (espécies de ambiente méxico). *one-way* ANOVA, seguida de teste de Tukey $p < 0,05$; Letras diferentes indicam diferença significativa entre espécies dentro de cada estação, e * indicam diferenças significativas entre estações seca e chuvosa dentro de cada espécie.

Relações entre tolerância do PSII ao calor e variáveis ecofisiológicas

Os dois eixos da Análise de Componentes Principais (PCA) explicaram cerca de 62,5% da variação. As variáveis mais associadas ao eixo 1 possibilitaram a separação das espécies em dois grupos, cada qual correspondente a um dos ambientes analisados (Figura 2). A termotolerância, AFE e potencial hídrico tanto no pré-amanhecer como no meio do dia mostraram-se mais relacionados com o eixo 1, enquanto que as variáveis suculência, conteúdo relativo de água e Fv/Fm mostraram-se mais relacionadas com eixo 2. O potencial hídrico tanto no pré-amanhecer como no meio do dia foi negativamente relacionado com os valores de T50. O mesmo ocorreu em relação à AFE.

A termotolerância (T50), o potencial hídrico (PH meio do dia e PH amanhecer e AFE estiveram mais associadas com o PCA1, enquanto que a Suculência (SC), O Conteúdo Relativo de Água (CRA) e FV/FM estiveram mais associados aos PCA2 (Figura 2). As variáveis associadas ao PC1 separaram claramente as espécies de habitat méxico e xérico, enquanto que as variáveis do PC2 não separaram nenhuma espécie (Figura 2). Tanto o potencial hídrico, AFE e termotolerância explicam a variação do eixo 1, enquanto que CRA, Fv/Fm e Suculência explicaram a variação no eixo 2. Também observamos uma relação negativa entre termotolerância e potencial hídrico foliar no qual observamos que espécies de maior termotolerância tendem a ter potencial hídrico mais negativo (Figura 3). Entretanto, quando consideramos todas as espécies juntas observamos que tanto no amanhecer ($y=48,36-2,91x$; $R^2=0,30$ $p=0,065$; Figura 3A), quanto no meio-do-dia ($y=48,19-2,24x$; $R^2=0,14$ $p<0,22$, Figura 3B) há uma tendência de maior termotolerância em potenciais hídricos mais negativos, o que nos mostra que possivelmente, espécies com maior estresse hídrico tendem a ser mais termotolerantes. Apesar da relação negativa entre tolerância ao calor do PSII e potencial hídrico indicada na PCA, mesmo considerando todas as espécies, apenas o CRA restou no modelo

mínimo da regressão múltipla ($F=5,651$ $p=0,01824$) sendo negativamente correlacionado com o T50.

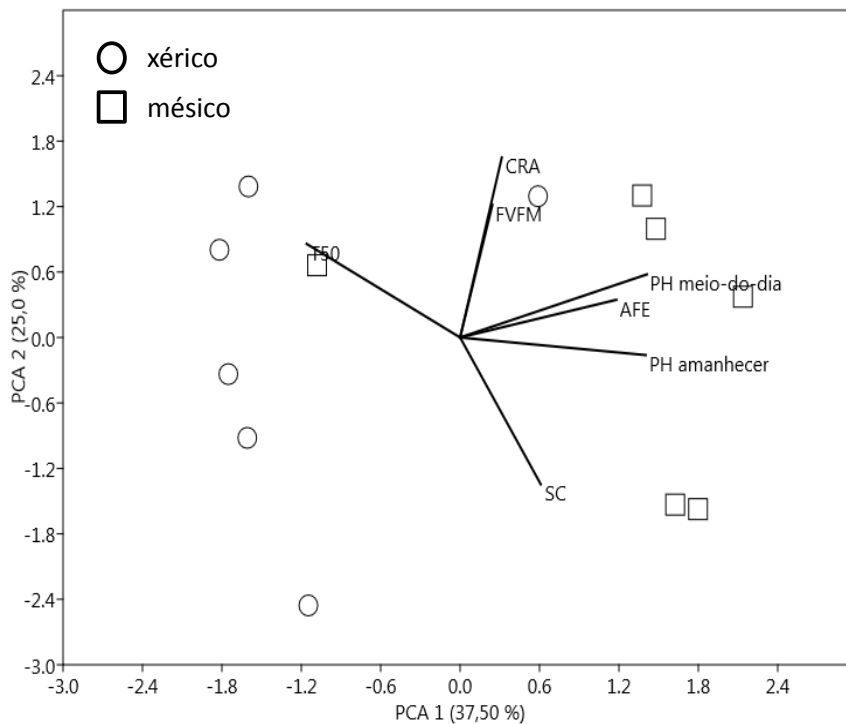


Figura 2. Análise de Componentes Principais (PCA) entre as variáveis, termotolerância (T50), conteúdo relativo de água (CRA), suculência (SC), Fv/Fm, área foliar específica (AFE), potencial hídrico - PH (pré-amanhecer) e potencial hídrico - PH (meio do dia), para as espécies avaliadas na estação seca de 2014

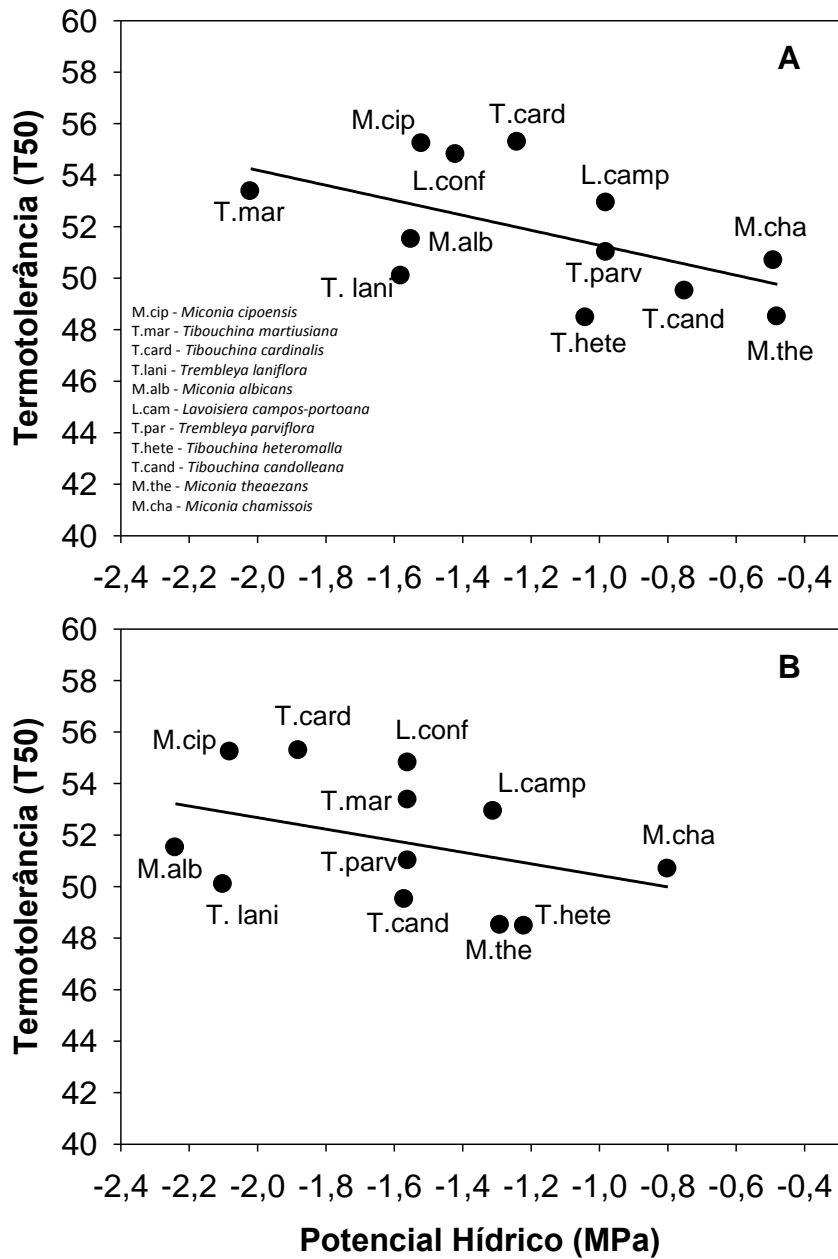


Figura 3. Relação entre potencial hídrico foliar e termotolerância (T50) para todas as espécies no amanhecer (A) e meio-dia (B) na estação seca de 2014

Plasticidade fenotípica na tolerância ao calor do PSII

Apesar das diferenças sazonal e diária na termotolerância evidenciadas nas normas de reação (Figura 1) e anteriormente descritas, os valores calculados de RDPI foram muito baixos (Tabela 3), indicando baixa plasticidade fenotípica para o T50.

Tabela 3. Valores médios de RDPI para cada espécie no amanhecer e meio do dia comparando-se estação seca e chuvosa.

| Espécies | RDPI – seca x chuva | |
|-----------------------------------|----------------------------|--------------------|
| | Pré-amanhecer | Meio do dia |
| <i>Lavoisiera campos-portoana</i> | 0,020 | 0,020 |
| <i>Lavoisiera confertiflora</i> | 0,002 | 0,039 |
| <i>Trembleya parviflora</i> | 0,020 | 0,034 |
| <i>Trembleya laniflora</i> | 0,016 | 0,016 |
| <i>Miconia albicans</i> | 0,004 | 0,006 |
| <i>Miconia chamissois</i> | 0,010 | 0,031 |
| <i>Miconia theaezans</i> | 0,000 | 0,004 |
| <i>Miconia cipoensis</i> | 0,062 | 0,049 |
| <i>Tibouchina martiusiana</i> | 0,032 | 0,026 |
| <i>Tibouchina cardinalis</i> | 0,047 | 0,034 |
| <i>Tibouchina candolleana</i> | 0,005 | 0,019 |
| <i>Tibouchina heteromalla</i> | 0,005 | 0,019 |

Discussão

Espécies de ambiente montanhoso são as mais susceptíveis às mudanças climáticas uma vez que por ocorrerem em topos de montanha são limitadas para a mudança de nicho com o aumento de temperatura (Colwell *et al.* 2008). Diversas espécies de campo rupestre ocorrem em topos de montanha e tem limitada capacidade de dispersão (Silveira *et al.* 2015). Neste sentido, o aquecimento global é uma grande ameaça à sobrevivência a estas espécies que já sofrem grande pressão antrópica (Martinelli & Moraes 2013). A tolerância do PSII a altas temperaturas das espécies Melastomataceae de campo rupestres aqui estudadas são similares aos obtidos para espécies lenhosas de floresta semidecídua que também incluiu espécies dessa mesma família botânica (Campos 2011). Os valores aqui observados também foram similares ao descrito para espécies de Bromeliaceae de campo rupestre (Chaves *et al.* 2015) e comparáveis aos obtidos para plantas C3 do deserto da Califórnia (Knight & Ackerly, 2002).

A maior parte das espécies de ambiente xérico avaliadas (*M. cipoensis*, *M. albicans*, *T. martusiana*, *T. cardinalis* e *L. campos-portoana*) apresentou maior tolerância do PSII ao calor que as de ambiente méxico, corroborando a hipótese de adaptação ambiental. De acordo com Hamerlynck and Knapp (1994) é esperado que espécies de ambiente xérico tivessem maior tolerância ao aumento da temperatura do que espécies de ambiente méxico.

Tanto no pré-amanhecer como no meio do dia, e de forma mais acentuada para espécies de ambiente xérico, foi observado variação sazonal na termotolerância, com aumento de valores de T50 na estação seca. Variação sazonal na termotolerância do PSII também foi observada por Campos (2011).

Em um estudo com uma conífera no mediterrâneo Ladjal *et al.* (2000) encontrou que a seca inicial no verão pode ter acionado mecanismos que conferem termotolerância, aumentando a termotolerância das espécies de 3 a 4°C. No presente estudo foram observadas diferenças de até 6°C nos valores de T50 entre as estações seca e chuvosa como no caso de *M. cipoensis*. Apesar dessas diferenças sazonais observadas, a plasticidade na termotolerância avaliada pelo RPDI foi muito baixa. A maior parte das espécies de Melastomataceae é sempre-verde e algumas produzem folhas continuamente ao longo do ano (Bedetti *et al.* 2011). Folhas produzidas em diferentes estações são funcionalmente diferentes, fornecendo também uma explicação para a plasticidade sazonal na termotolerância.

A tolerância ao calor do PSII nas melastomataceae de campo rupestre tem relação o *status* hídrico das plantas, uma vez que as espécies mais termotolerantes foram a sua maior parte as que apresentaram em geral valores mais negativos de potencial hídrico foliar. Esse resultado vem confirmar que mecanismos de tolerância ao déficit hídrico podem também estar relacionados com a aquisição da termotolerância. Tem sido relatado que o estresse hídrico modifica a resposta do PSII a altas temperaturas aumentando a termoestabilidade do complexo de evolução de oxigênio pelo acúmulo de compostos solúveis induzidos sob estresse hídrico (Lu & Zhang 1999). O estresse salino também induz aumento na termotolerância do PSII. Wen *et al.* (2005) ao avaliar a termotolerância em plantas submetidas ao estresse salino verificaram um aumento em 5°C na termotolerância de *Artemisia anethifoliu*. Esses autores também atribuem esse efeito à maior resistência do complexo de evolução de oxigênio ao aumento da temperatura. Vários outros trabalhos têm mostrado a relação entre estresse por calor e estresse hídrico (Gonzalez-Cruz & Pastenes, 2011; Havaux 1992; Ladjal *et al.* 2000; Sharkey 2005; Oukarroum *et al.* 2009; Snider *et al.* 2014).

A relação entre tolerância ao calor e a seca pode se dar no nível estomático, considerando que a transpiração é um mecanismo de resfriamento da folha. Sob estresse hídrico é frequente uma limitação na abertura estomática para economizar água, e assim já haveria um aumento na temperatura foliar (Sharkey 2005; Rizhsky *et al.* 2002; Chaves *et al.* 2003). A combinação de alta exposição à luz, e estresse hídrico observados na estação seca também pode afetar o sistema antioxidante. Enzimas fundamentais na mitigação do estresse oxidativo (Superóxido Desmutase, Ascorbato Peroxidase, Glutathione redutase), tem sua atividade diminuída sob alta temperatura (Rennenberg *et al.* 2006). Entretanto, é observado aumento de xantofilas (Violaxantina, Neoxantina, Luteína, β -caroteno), que podem ser fundamentais para proteger especialmente o PSII dos efeitos danosos do aumento da temperatura (Garcia-Plazaola and Becerril 2001). Sobretudo, o possível envolvimento das xantofilas na termoestabilidade do PSII, pode estar relacionado com a estabilização conferida ao PSII por tamponar o efeito do aumento da temperatura sobre a fluidez da membrana do tilacóide (Havaux 1998; Yin *et al.* 2010; Gonzales-Cruz & Pastenes 2012). Além disso, aumento na concentração de α -tocoferóis tem sido observado em plantas sobre estresse hídrico e luminoso (Munné-Bosch and Alegre 2000; Munné-Bosch and Peñuelas 2004), sendo observado seu aumento em folhas de *Vellozia gigantea*, também uma espécie endêmica do campo rupestre, justamente na estação seca (Morales *et al.* 2014). Também a capacidade de manter alta concentração de fosfatilglicerol, e o aumento dos níveis de ácidos graxos saturados na membrana do tilacóide podem ser eventos responsáveis para adquirir a resistência ao calor (Havaux 1998; Zhang *et al.* 2005; Gonzalez-Cruz & Pastenes 2012; Bitá & Gerats 2013).

A relação inversa observada entre Termotolerância, AFE e potencial hídrico foliar (Figura 3) mostra uma clara separação entre espécies de ambiente xérico das

espécies de ambiente méxico. De acordo com o observado, podemos esperar que espécies com maior AFE e maior potencial hídrico foliar, sejam menos termotolerantes. Knigh & Ackerly (2001) também encontrou que espécies com menor AFE foram mais termotolerantes, e que tais espécies foram mais capazes de recuperar o transporte de elétrons após exposição a altas temperaturas do que espécies com maior AFE. Uma relação inversa entre termotolerância e AFE é especialmente importante porque AFE está diretamente relacionada com assimilação de carbono e balanço de energia da folha (Westoby *et al.* 2000; Wright *et al.* 2004). Além disso, espécies de ambiente xérico, expostas a alta luminosidade e baixa disponibilidade de nutrientes apresentam em geral baixa AFE (Wilson *et al.* 1999; Poorter & Jong 1999; Westoby *et al.* 2000), o que condiz com o nossos resultados encontrados em que a maior parte das espécies de ambiente xéricos apresentam menor AFE quando comparadas com espécies de ambiente méxico (Tabela S3, material suplementar). Essa relação inversa observada entre AFE e termotolerância pode ser extremamente importante, uma vez que AFE poderia ser utilizada como indicativo de termotolerância em plantas. Avaliar AFE é uma tarefa que demanda menos trabalho e equipamentos do que avaliar diretamente a termotolerância com o uso de medidas de fluorescência da clorofila *a*. Também o CRA, uma variável de fácil e rápida medição, poderia ser indicativo de termotolerância, já que foi a única variável significativa no modelo de regressão múltipla, estando negativamente correlacionada com a termotolerância.

As espécies de ambiente xérico que foram mais termotolerantes são também em sua maioria espécies endêmicas dos campos rupestres, corroborando com nossa hipótese inicial de que espécies de ambientes xéricos fossem mais termotolerantes. Ao mesmo tempo, os resultados encontrados corroboraram com nossa hipótese de variação sazonal na termotolerância, associada à disponibilidade sazonal de água.

Esses resultados são pioneiros, principalmente por serem os primeiros resultados da avaliação da termotolerância em espécies em sua maioria endêmicas e ameaçadas de extinção localizadas em ecossistemas montanos. Além do mais, esses resultados podem apontar que em um cenário de mudanças climáticas com aumento da temperatura do ar e diminuição na precipitação, previsto para as próximas décadas (IPCC 2014), possivelmente, espécies de ambiente méxico serão mais prontamente afetadas do que espécies de ambiente xérico. Com isso, é esperado que essas espécies tenham que migrar para maiores altitudes ou regiões mais frias devido ao aumento da temperatura. Entretanto, a perda gradual de habitats tanto pelo turismo desenfreado, impactos da mineração e pecuária nessa região, e a fragmentação de habitats podem diminuir em muito as áreas que ainda estarão disponíveis para migração dessas espécies. Se a temperatura continuar aumentando nas próximas décadas além da capacidade de termotolerância das espécies, é esperado que as espécies, sobretudo, as endêmicas dos campos rupestres, também não terão habitats suficientes para migrarem em busca de condições ambientais mais propícias para manterem populações viáveis, podendo também estar à beira de extinção.

Referências bibliográficas

- Allakhverdiev SI, Kreslavski VD, Klimov VV, Los DA, Carpentier R, Mohanty P. 2008. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis. *Photosynthesis Research* 98: 541-550.
- Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, de Moraes JLG, Sparovek G. 2014. Köppen climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22: 711-728.
- Barra M, Haumann M, Holger D. 2005. Specific loss of the extrinsic 18 KDa protein from Photosystem II upon heating to 47°C causes inactivation of oxygen evolution likely due to Ca release from the Mn-complex*. *Photosynthesis Research* 84: 231-237.
- Bedetti CS, Aguiar DB, Jannuzzi MC, Moura MZD, Silveira FAO. 2011. Abiotic factors modulate phenotypic plasticity in an apomictic shrub [*Miconia albicans* (SW.) Triana] along a soil fertility gradient in a Neotropical savanna. *Australian Journal of Botany* 59: 274-282.
- Berry J, Björkman O. 1980. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. *Annual Review Plant Physiology* 31: 491-543.
- Bitá CE, Gerats T. 2013. Plant tolerance to high temperature in a changing environment: scientific fundamentals and production of heat stress-tolerant crops. *Frontiers in Plant Science* 4: 1-18.
- Campos PT. 2011. Fenologia e variações sazonais no status hídrico e na termotolerância em espécies lenhosas em um fragmento de mata semidecídua em Belo Horizonte, MG. 2011. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal de Minas Gerais.
- Cao J, Govindjee 1990. Chlorophyll *a* fluorescence transient as an indicator of active and inactive photosystem II in thylakoid membranes. *Biochimistry Biophysical Acta* 1015: 180-188.
- Chaves CJ N, Leal BSS, Lemos-Filho JP. 2015. Temperature modulation of thermal tolerance of a CAM-tank bromeliad and the relationship with acid accumulation in different leaf regions. *Physiologia Plantarum* 154: 500-510. doi: 10.1111/ppl.12295
- Chaves MM, Maroco JP, Pereira J. 2003. Understanding plant responses to drought—from genes to the whole plant. *Functional Plant Biology* 30: 239-264.

- Colwell RK, Brehm G, Cardelús CL, Gilman AC, Longino JT. 2008. Global Warming, Elevational Range Shifts, and Lowland Biotic Attrition in the Wet Tropics. *Science* 322: 258-261.
- Corlett RT, Westcott D. A. 2013. Will plant movements keep up with climate change? *Trends in Ecology & Evolution* 28(8): 482-488.
- De Las Rivas J, Barber J. 1997. Structure and thermal stability of photosystem II reaction centers studied by infrared spectroscopy. *Biochemistry* 36: 8897-8903.
- Dias S, Barreiro MG, Campos OS, Ramalho JC, Lindon FC. 2010. Wheat cellular membrane thermotolerance under heat stress. *Journal of Agronomy & Crop Science* 196: 100-108.
- Ducruet JM, Peeva V, Havaux M. 2007. Chlorophyll thermofluorescence and thermoluminescence as complementary tools for the study of temperature stress in plants. *Photosynthesis Research*. 93(1-3): 159-171.
- Epron D. 1997. Effects of drought on photosynthesis and on the thermotolerance of photosystem II in seedlings of cedar (*Cedrus atlantica* and *C. libani*). *Journal of Experimental Botany* 48(315): 1835-1841.
- Gamon JA, Pearcy RW. 1990. Photoinhibition in *Vitis californica*: the Role of Temperature During High-light Treatment. *Plant Physiology* 92: 487-494.
- Garcia-Plazaola JI, Becerril JM. 2001. Seasonal changes in photosynthetic pigments and antioxidants in beech (*Fagus sylvatica*) in a mediterranean climate: implications for tree decline diagnosis. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 225-232.
- Gian-Reto W, Post E, Convey P, Menzel A, Parmesan C, Beebee TJC, Fromentin JM. 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature* 416: 389-395.
- Giulietti AM, Pirani JR, Harley RM. 1997. Espinhaço range region, eastern Brazil. In: Davis, S.D.; Heywood, V.H.; Herrera-MacBryde, O.; Villa-Lobos, J. & Hamilton, A.C. (eds.). *Centres of plant diversity: a guide and strategy for their conservation*. Vol.3. WWF/IUCN, Cambridge. Pp. 397-404.
- Gimeno TE, Pias B, Lemos-Filho JP, Valladares F. 2009. Plasticity and stress tolerance override local adaptation in the responses of Mediterranean holm oak seedlings to drought and cold. *Tree Physiology* 29: 87-98.

- Godoy O, Lemos-Filho JP, Valladares F. 2011. Invasive species can handle higher leaf temperature under water stress than Mediterranean natives. *Environmental and Experimental Botany* 71: 207-214.
- Gonzalez-Cruz J, Pastenes C. 2012. Water-stress-induced thermotolerance of photosynthesis in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) plants: The possible involvement of lipid composition and xanthophyll cycle pigments. *Environmental and Experimental Botany* 77: 127-140.
- Hamerlynck EP, Knapp AK. 1994. Leaf-level responses to light and temperature in two co-occurring *Quercus* (Fagaceae) species: implications for tree distribution patterns. *Forest Ecology and Management* 68: 149-159.
- Hammer O. Past 3.x. 2014. Natural History Museum. University of Oslo.
- Havaux M. 1992. Stress tolerance of photosystem II *in vivo*. Antagonistic effects of water, heat, and photoinhibition stress. *Plant Physiology* 100: 424-432.
- Havaux M. 1993. Characterization of thermal damage to the photosynthetic electron transport system in potato leaves. *Plant Science* 94: 19-33.
- Havaux M, Tardy F. 1996. Temperature-dependent adjustment of the thermal stability of photosystem II *in vivo*: possible involvement of xanthophyll-cycle pigments. *Planta* 198: 324-333.
- Horváth I, Glatz A, Varvasovsky U, Torok Z, Pali T. *et al.* 1998. Membrane physical state controls the signaling mechanism of the heat shock response in *Synechocystis* PCC 6803: Identification of *hsp17* as a “fluidity gene”. *Proc Natl Acad Sci* 95(7): 3513–3518.
- IPCC 2014: Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp.
- Knight CA, Ackerly DD. 2002. An ecological and evolutionary analysis of photosynthetic thermotolerance using the temperature-dependent increase in fluorescence. *Oecologia* 130: 505-514.
- Ladjal M, Epron D, Ducrey M. 2000. Effects of drought preconditioning on thermotolerance of photosystem II and susceptibility of photosynthesis to heat stress in cedar seedlings. *Tree Physiology* 20: 1235-1241.

- Lawlor, DW, Uprety DC. 1993. Effects of water stress on photosynthesis of crops and the biochemical mechanism. In: Abrol, Y.P., Mohanty, P., Govindjee, A. (Eds.), Photosynthesis, Photoreactions to Plant Productivity. Oxford and IBH Publishing Co. PVT Ltd, New Delhi, pp. 421-445.
- Los DA, Murata N. 2004. Membrane fluidity and its roles in the perception of environmental signals. *Biochimistry Biophysical Acta* 1666: 142-157.
- Lu C, Zhang J. 1999. Effects of water stress on photosystem II photochemistry and its thermostability in wheat plants. *Journal of Experimental Botany* 50(336) 1199-1206.
- Lu C, Zhang JH. 2000. Heat-induced Multiple Effects on PSII in Wheat Plants. *Journal of Plant Physiology*. 156: 259-265.
- Martinelli G, Moraes MA. 2013. Livro vermelho da flora do Brasil. Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Centro Nacional de Conservação da Flora, Rio de Janeiro.
- Mittler R, Finka A, Goloubinoff P. 2012. How do plants feel the heat? *Trends in Biochemical Sciences* 37 (3): 118-125.
- Mittler R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science* 11: 15-19.
- Morales M, Garcia QS, Silva AIS, Silva MC, Bosch SM. 2014. Tocotrienols in *Vellozia gigantea* leaves: occurrence and modulation by seasonal and plant size effects. *Planta* 240: 437-446.
- Munne-Bosch S, Alegre L. 2000. Changes in carotenoids, tocopherols and diterpenes during drought and recovery, and the biological significance of chlorophyll loss in *Rosmarinus officinalis* plants. *Planta* 210: 925-931.
- Munne-Bosch S, Peñuelas J. 2004. Drought-induced oxidative stress in strawberry tree (*Arbutus unedo* L.) growing in Mediterranean field conditions. *Plant Science* 166: 1105-1110.
- Örvar BL, Sangwan V, Omann F, Dhindsa RS. 2000. Early steps in cold sensing by plant cells: the role of actin cytoskeleton and membrane fluidity. *Plant J*. 23: 785-794.
- Oukarroun A, Schansker G, Strasser RJ. 2009. Drought stress effects on photosystem I content and photosystem II thermotolerance analyzed using Chl *a* fluorescence

- kinetics in barley varieties differing in their drought tolerance. *Physiologia Plantarum* 137: 188-199.
- Poorter H, Jong R. 1999. A comparison of specific leaf area, chemical composition and leaf construction costs of field plants from 15 habitats differing in productivity. *New Phytologist* 143: 163-176.
- R Development Core Team 2014. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>
- Rennenberg H, Loreto F A, Polle A, Brill F, Fares S, Beniwal RS, Gessler A. 2006. Physiological Responses of Forest Trees to Heat and Drought. *Plant Biology* 8:556-571.
- Rizhsky L, Liang H, Mittler R. 2002. The combined effect of drought stress and heat shock on gene expression in tobacco. *Plant Physiol.* 130: 1143-1151.
- Silveira FAO, Negreiros D, Barbosa NPU, Buisson E, Carmo FF. et al. 2015. Ecology and evolution of plant diversity in the endangered campo rupestre: a neglected conservation priority. *Plant Soil* doi 10.1007/s11104-015-2637-8.
- Silveira FAO, Fernandes GW, Lemos-Filho JP. 2013. Ecophysiology of Neotropical Melastomataceae: implications for conservation and restoration of savannas and rainforest. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 99(1): 82-99.
- Sharkey T. 2005. Effects of moderate heat stress on photosynthesis: importance of thylakoid reactions, rubisco deactivation, reactive oxygen species, and thermotolerance provided by isoprene. *Plant, Cell and Environment* 28: 269-277.
- Snider JL, Oosterhuis DM, Collins GD, Pilon C, Simons TF. 2014. Field-acclimated *Gossypium hirsutum* cultivars exhibit Genotypic and seasonal differences in photosystem II thermostability. *Journal of Plant Physiology* 170: 489-496.
- Sinsawat V, Leipner J, Stamp P, Fracheboud Y. 2004. Effect of heat stress on the photosynthetic apparatus in maize (*Zea mays L.*) grown at control or high temperature. *Environ. Exp. Bot.* 52: 123-129.
- Valladares F, Sanches-Gomes D, Zavala MA. 2006 Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology* 94: 1103-1116.

- Valladares F, Pearcy RW. 1997. Interactions between water stress, sun-shade acclimation, heat tolerance and photoinhibition in the sclerophyll *Heteromeles arbutifolia*. *Plant, Cell and Environment* 20: 25-36.
- Wahid A, Gelani S, Ashraf M, Foolad MR. 2007. Heat tolerance in plants: An overview. *Environmental and Experimental Botany* 61: 199-223.
- Wen X, Qiu N, Lu Q, Lu C. 2005. Enhanced thermotolerance of photosystem II in salt-adapted plants of the halophyte *Artemisia anethifolium*. *Planta* 220 (3): 486-497.
- Westoby M, Warton D, Reich PB. 2000. The time value of leaf area. *American Naturalist*. 155(5): 649-656.
- Wheng JH, Lai MF. 2005. Estimating heat tolerance among plant species by two chlorophyll fluorescence parameters. *Photosynthetica* 43(3): 439-444.
- Wilson PJ, Thompson K, Hodgson JG. 1999. Specific leaf area and leaf dry matter content as alternative predictors of plant strategies. *New Phytologist* 143: 155-162.
- Wright IJ, Reich PB, Westoby M, Ackerly DD, Baruch Z et al. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* 428: 821-827.
- Yamada M, Hidaka T, Fukamachi H. 1996. Heat tolerance in leaves of tropical fruit crops as measured by chlorophyll fluorescence. *Scientia Horticulturae* 67: 39-48.
- Yin SLY, Liao W, Lu Q, Xiaogang W, Lu C. 2010. Photosystem II photochemistry, photoinhibition, and the xanthophyll cycle in heat-stressed rice leaves. *Journal of Plant Physiology* 167: 959-966.
- Zhang M, Barg R, Yin M, Gueta-Dahan Y, Leikin-Frenkel A, Salts Y, Shabtai S, Ben-Hayyim G. 2005. Modulated fatty acid desaturation via overexpression of two distinct omega-3 desaturases differentially alters tolerance to various abiotic stresses in transgenic tobacco cells and plants. *Plant Journal*. 44: 361-371.
- Zavalloni C, Gielen B, De Boeck HJ, Lemmens CMHM, Ceulemans R, Nijs I. 2009. Greater impact of extreme drought on photosynthesis of grasslands exposed to a warmer climate in spite of acclimation. *Physiologia Plantarum* 136: 57-72.

Material suplementar

Tabela S1. Resultado da Análise de variância, *two-way* ANOVAs, realizada para dados de termotolerância do PSII (T50) para estação, habitat e interação estação x habitat.

$p < 0,05$

| Pré-amanhecer | | | | | |
|--------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Fonte de variação | DF | SS | MS | F | p |
| estação | 1 | 0,00463 | 0,00463 | 11,704 | <0,001 |
| habitat | 1 | 0,00118 | 0,00118 | 2,975 | 0,087 |
| estaçãoxhabitat | 1 | 0,00344 | 0,00344 | 8,698 | 0,004 |
| resíduo | 116 | 0,0459 | 0,000396 | | |
| total | 119 | 0,0552 | 0,000463 | | |

| Meio do dia | | | | | |
|--------------------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Fonte de variação | DF | SS | MS | F | p |
| estação | 1 | 0,00561 | 0,00561 | 12,669 | <0,001 |
| habitat | 1 | 0,00501 | 0,00501 | 11,322 | 0,001 |
| estaçãoxhabitat | 1 | 0,00251 | 0,00251 | 5,667 | 0,019 |
| resíduo | 116 | 0,0514 | 0,000443 | | |
| total | 119 | 0,0645 | 0,000542 | | |

| Espécies | Estação seca | | | | Estação chuvosa | | | |
|--------------------------|--------------|---------|----------|----------|-----------------|---------|----------|----------|
| | Amanhecer | | Meio-dia | | Amanhecer | | Meio-dia | |
| | Tmín.°C | Tmáx.°C | Tmín.°C | T.máx.°C | Tmín.°C | Tmáx.°C | Tmín.°C | T.máx.°C |
| <i>L.campos-portoana</i> | 51,6 | 54,7 | 51,7 | 55,5 | 49,4 | 51,8 | 49 | 51,1 |
| <i>T.laniflora</i> | 42,6 | 53,9 | 48,8 | 52,6 | 47,2 | 51,6 | 47,2 | 51,6 |
| <i>L.confertiflora</i> | 50,6 | 53,8 | 54 | 55,5 | 50,9 | 53,2 | 49 | 50,4 |
| <i>T.parviflora</i> | 52,9 | 53,6 | 49,6 | 52,9 | 50,5 | 51,7 | 45,6 | 49,6 |
| <i>M.albicans</i> | 49,8 | 55,6 | 49,4 | 56,1 | 51,1 | 52,8 | 50,1 | 51,8 |
| <i>M.cipoensis</i> | 52,5 | 56,5 | 52,5 | 56,5 | 50,1 | 55,9 | 49,8 | 50,3 |
| <i>M.chamissois</i> | 51,8 | 53,8 | 49,2 | 52,6 | 53,8 | 54,8 | 53,2 | 54,5 |
| <i>M.theaezans</i> | 53,3 | 55,3 | 45,2 | 52,0 | 53,8 | 56,2 | 46,5 | 49,7 |
| <i>T.cardinalis</i> | 52,0 | 54,7 | 54,8 | 56,2 | 47,5 | 50,0 | 50,9 | 52,4 |
| <i>T.martiusiana</i> | 53,6 | 59,1 | 48,7 | 55,2 | 51,7 | 54,0 | 50,2 | 51,2 |
| <i>T.candolleana</i> | 51,8 | 53,3 | 48,0 | 52,0 | 50,6 | 53,3 | 45,3 | 52,0 |
| <i>T.heteromalla</i> | 48,7 | 50,2 | 46,6 | 49,6 | 48,9 | 51,0 | 51,3 | 54,8 |

Tabela S2. Valores máximos e mínimos da termotolerância do PSII (T50) no amanhecer e meio-dia, na estação seca e chuvosa para 12 espécies de Melastomataceae dos Campos Rupestres

Tabela S3. Valores médios \pm desvio-padrão para Área Foliar Específica – AFE para 12 espécies de Melastomataceae dos Campos Rupestres, Serra do Cipó-MG.

| Tribos | Espécies | Habitat | AFE (cm²/g) |
|---------------|-----------------------------------|----------------|-------------------------------|
| Melastomeae | <i>Tibouchina martiusiana</i> | xérico | 27,3 \pm 0,9 |
| | <i>Tibouchina cardinalis</i> | xérico | 16,4 \pm 2,8 |
| | <i>Tibouchina heteromalla</i> | mésico | 32,7 \pm 6,2 |
| | <i>Tibouchina candolleana</i> | mésico | 50,2 \pm 10,9 |
| Miconieae | <i>Miconia albicans</i> | xérico | 21,2 \pm 4,2 |
| | <i>Miconia cipoensis</i> | xérico | 26,8 \pm 4,2 |
| | <i>Miconia chamissois</i> | mésico | 32,9 \pm 3,0 |
| | <i>Miconia theaezans</i> | mésico | 26,6 \pm 3,9 |
| Microlicieae | <i>Lavoisiera campos-portoana</i> | xérico | 29,4 \pm 8,3 |
| | <i>Trembleya laniflora</i> | xérico | 17,4 \pm 3,5 |
| | <i>Lavoisiera confertiflora</i> | mésico | 14,7 \pm 11,9 |
| | <i>Trembleya parviflora</i> | mésico | 52,2 \pm 11,4 |

Considerações Finais

Esta tese deu continuidade aos poucos trabalhos existentes sobre a evolução e ecofisiologia das Melastomataceae dos Campos Rupestres. O nosso foco aqui foi ampliar o conhecimento sobre a evolução de traços nessa família que é uma das mais representativas dos Campos Rupestres, buscando responder perguntas sobre como o ambiente e a história evolutiva determina a distribuição de traços nessa família e consequentemente, influenciam a distribuição geográfica das espécies avaliadas.

Nesse trabalho avaliamos a evolução de traços foliares em Melastomataceae em um contexto filogenético usando os métodos comparativos filogenéticos e decomposição da diversidade ao longo dos nós de uma árvore filogenética de Melastomataceae dando continuidade ao proposto por Silveira *et al.* 2012 que apontou em seu trabalho a importância dessa abordagem filogenética em estudos com a flora dos Campos Rupestres.

Os principais resultados do nosso trabalho foram:

- O estudo da evolução de traços funcionais foliares apontou inúmeras convergências e divergências que podem ser resultado da ação de filtros ambientais e interações competitivas moldando a evolução de traços em Melastomataceae dos Campos Rupestres;

- Observamos sinal filogenético para a maioria dos traços avaliados, podendo indicar possível conservação de nicho para essa família;

- Através da decomposição da diversidade ao longo dos nós, observamos que a maior diversidade está contida na raiz da árvore, especialmente, na separação de Miconieae das demais tribos Melastomeae e Microlicieae, mostrando a importância de eventos remotos influenciando a evolução de traços funcionais nessa família.

- Ao avaliar a influência do habitat e sazonalidade sobre o *status* hídrico e desempenho fotossintético observamos diferenças entre espécies de habitat xérico e méxico e que a sazonalidade influencia o *status* hídrico das espécies, além de que espécies de habitat xérico apresentaram menores valores de potencial hídrico e foram mais fotoinibidas do que espécies de habitat méxico;

- Ao avaliar a tolerância ao calor em espécies de habitat xérico e méxico observamos que a sazonalidade influencia na termotolerância das espécies, sendo que a termotolerância foi maior na estação seca, sendo diretamente relacionada com o *status* hídrico das espécies. Também foi observado que espécies de habitat xérico e em sua maioria endêmica dos Campos Rupestres foram também mais termotolerantes do que espécies de habitat méxico.

Esses resultados têm implicações para conservação de espécies dos Campos Rupestres, visto que, se considerarmos que a maioria dos traços avaliados apresenta sinal filogenético com possível conservação de nicho, em um cenário atual de mudanças climáticas globais com aumento da temperatura, é possível que as espécies endêmicas não tenham tempo o suficiente para migrarem para regiões com temperaturas mais amenas, mesmo sendo elas mais termotolerantes. Contudo, a crescente perda de habitats nos Campo Rupestre devido à pressão do ecoturismo, introdução de espécies exóticas, mineração entre outras pressões antrópicas sobre esse ecossistema pode diminuir em muito as áreas disponíveis para as espécies migrarem.

Outras perguntas sobre a evolução de traços foliares em Melastomataceae dos Campos Rupestres ainda precisam ser respondidas, mas acreditamos que o nosso trabalho traz contribuições relevantes sobre o estudo da evolução de traços nessa família dominante nos Campos Rupestres. Reforçamos a importância de mais estudos com

espécies desse rico e ameaçado ecossistema, especialmente, com o objetivo de trazer novas contribuições com vista à conservação e proteção dos Campos Rupestres.