Universidade do Estado do Rio de Janeiro

Centro Biomédico

Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes

Henrique Dutra Souto Ramalho

Avaliação do estresse térmico na flora dos *inselbergs* do Alto Itatiaia

Rio de Janeiro

2018

Henrique Dutra Souto Ramalho

Avaliação do estresse térmico na flora dos *inselbergs* do Alto Itatiaia

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientadora: Prof.ª Dra. Dulce Mantuano

Rio de Janeiro

2018

CATALOGAÇÃO NA FONTE

UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC-A

R165 Ramalho, Henrique Dutra Souto.
Avaliação do estresse térmico na flora dos inselbergs do Alto Itatiaia/ Henrique Dutra Souto Ramalho.– 2018.
82 f. : il.

Orientadora: Dulce Mantuano.
Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes.

1. Ecofisiologia vegetal - Itatiaia (RJ) - Teses. 2. Inselbergs - Itatiaia (RJ) - Teses. I. Mantuano, Dulce. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 582.26

Patricia Bello Meijinhos CRB7/5217 - Bibliotecária responsável pela elaboração da ficha catalográfica

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta dissertação, desde que citada a fonte

_____ _____

Assinatura Data

Henrique Dutra Souto Ramalho

Avaliação do estresse térmico na flora dos *inselbergs* do Alto Itatiaia

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 09 de Novembro de 2018.

Orientadora:

Prof.ª Dra. Dulce Mantuano

Universidade Federal do Rio de Janeiro

Banca Examinadora:

_____

Prof.ª Dra. Helena Regina Pinto Lima

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

_____

Prof. Dr. Eduardo Arcoverde de Mattos

Universidade Federal do Rio de Janeiro

_____

Prof.ª Dra. Thaís Jorge Vasconcellos

Laboratório de Anatomia Vegetal - UERJ

Rio de Janeiro

2018

RESUMO

RAMALHO, Henrique Dutra Souto. **Avaliação do estresse térmico na flora dos *inselbergs* do Alto Itatiaia.** 2018. 82 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

O Parque Nacional do Itatiaia possui grande diversidade vegetal incluindo especies de origem Andina, da Mata Atlantica e do Cerrado, que inclusive ocorrem em afloramentos rochosos (*inselbergs*). Este ambiente possue condições abióticas peculiares como a falta de substrato, baixa retenção hídrica, alta incidência luminosa e ampla variação térmica. A fisiologia da fotossíntese sofre grande influência da temperatura e frente a um cenário de mudanças climáticas é preciso compreender a capacidade de aclimatação das espécies tropicais. Adicionalmente, a sucessão ecológica dos afloramentos rochosos depende de espécies focais pioneiras que amenizam as condições extremas de temperatura e indisponibilidade hídrica. Desta forma, este estudo teve como objetivo (1) investigar a resposta de quatro espécies rupícolas - duas pioneiras facilitadoras (*Ferneseea itatiaiae* e *Barbacenia gounellana*) e duas de sucessão tardia (*Chionolaena isabellae* e *Alstroemeria foliosa*) - ao estresse térmico numa escala diária e sazonal; e (2) simular efeito do aquecimento global (aproximadamente +3ºC) *in situ* utilizando "câmaras de topo aberto" e determinar as temperaturas limites da fotossíntese. Para atingir o objetivo (1) investigou-se os efeitos da sazonalidade na eficiência da fotoquímica do fotossistema II, a variação nos pigmentos fotossintetizantes e no conteúdo relativo de água. O objetivo (2) foi abordado avaliando-se a queda da assimilação líquida de carbono, o impacto da subida de temperatura nos valores de Fv\Fm e condutância estomática, através da análise acoplada e simultânea das trocas gasosas e da fluorescência da clorofila. As espécies estudadas apresentaram estratégias ecofisiológicas distintas para sobreviver as flutuações no regime de luz, temperatura e água dos afloramentos rochosos, de forma que não convergem em um padrão de pioneiras e secundárias. A variação climática de temperatura é mais pronunciada dentro de um curso diário, do que sazonalmente - embora somente nas variações sazonais as temperaturas extremas para a fotossíntese, isto é, abaixo de 5° C e acima de 23° C, sejam alcançadas. *F. itatiaiae* é uma planta CAM cujo mesofilo atingiu temperaturas próximas a zero durante o inverno e mesmo assim não apresentou queda na eficiência fotossintética, enquanto as outras espécies mantiveram o mesofilo desacoplado da temperatura do ar em até 4ºC. Com isso, *F. itatiaiae* e *C. isabellae* se mostraram mais vulneráveis ao aquecimento, pois apresentaram ponto de compesação da fotossíntese próximo de 25ºC, ou seja, próximo à temperatura máxima já observada atualmente no clima do Alto Itatiaia. Estes resultados sugerem que qualquer aquecimento climático causaria impacto significativo para estas espécies. Em contrapartida, *B. gounelleana* apresentou taxas de assimilação acima da compensação mesmo em temperaturas superiores à 40 ºC. Os resultados apontam uma resistência da via sucessional de colonização da rocha por *B. gounelleana* frente à um cenário de aumento das temperaturas atmosféricas. Espera-se uma perda de diversidade específica e funcional.

Palavras-chave: Afloramento Rochoso. Ecofisiologia. Aquecimento Global. Mudança Climática. *Barbacenia gounelleana*. *Fernsea itaitiaie*. *Alstroemeria foliosa*. *Chionolaena isabellae*.

ABSTRACT

RAMALHO, Henrique Dutra Souto. **Temperature stress evaluation on inselberg vegetation of Alto Itatiaia.** 2018. 82 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Vegetal) - Instituto de Biologia Roberto Alcantara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018

The vegetation of Itatiaia Nacional Park is rich in life forms and aggregate species of different phylogenetic origin like Andean, Brazilian Atlantic Forest and Brazilian Cerrado which even occur on rocky outcrops (*inselbergs*). This environment exhibit peculiar abiotic conditions such as lack of soil, short water supply, high irradiance and wide thermal variations. Photosynthesis is highly influenced by temperature and in a climate change scenario there is an urgent need to investigate about the capacity of tropical species to acclimate. Moreover, the inselberg's ecological succession depends on focal species that mitigate the harsh environmental conditions. Thus, the aims of this study are (1) to study the response of four rupicolous plant species – two nursing pioneers (*F. itatiaiae* and *Barbacenia gounelleana*) and two climax species (*Chionolaena isabellae* and *Alstroemeria foliosa*) – to thermal stress in a daily and seasonal scale; (2) simulate global warming effect (about +3ºC) *in situ* with open top chambers and to define the thermal limit of photosynthesis. To reach objective (1) it was considered the effects on ecophysiological traits such as photochemical efficiency of photosystem II, photosynthetic pigments and relative water content. Objective (2) was assessed by studying the drop in net carbon assimilation, the impact of rising temperature on Fv\Fm and stomatal conductance, using simultaneous analysis of gas exchange and chlorophyll fluorescence. Studied species showed distinct ecophysiological strategies to survive environmental fluctuations in light, temperature and water supply of mountain inselbergs, so that there was no unifying pattern determined by successional status (pioneers and climax). Climatic variation of temperature is more pronounced in a daily basis than seasonally. Although, only looking at seasonal amplitude is possible to reach extreme temperatures for photosynthesis, i.e. below 5°C and above 23°C. *F. itatiaiae* is a CAM species which the mesophyll reach temperatures close to 0°C in winter and yet showed no drop on photochemical efficiency, while others kept the mesophyll 4°C above air temperature. Thereby, *F. itatiaiae* and *C. isabellae* showed higher heat sensitivity, since photosynthetic compensation point was close to 25°C, very close to current maximum air temperature at Itatiaia National Park. Suggesting that any climatic heating would impact significantly these species. Alternatively, *B. gounelleana* showed positive assimilation rates in temperatures even above 40°C. In a scenario of increase in atmospheric temperature, our results indicate that rock colonization would remain through *B. gounelleana* successional way, and thus, a loss of functional and specific diversity should be expected.

Key words: Increasing Temperature. Ecophysiology. Global Warming. Tropical Mountain. *Barbacenia gounelleana. Ferneseea itatiaiae*. *Alstroemeria foliosa*. *Chionolaena isabellae.*

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Trocas de energia entre a planta e seu ambiente através da radiação, convecção e transpiração..... 19

Figura 2 – A a D – Imagens das espécies estudadas *in situ* nos *inselbergs* da montanha do Couto no Parque Nacional do Itatiaia..... 26

Tabela 1 – Sazonalidade da eficiência fotoquímica do fotossistema II (Fv/Fm) em *Fernseea itatiaiae*, *Alstroemeria foliosa*, *Chionolaena isabellae* e *Barbacenia gounelleana* nos afloramentos rochosos do Alto Itatiaia, Serra da Mantiqueira, Brasil. Dados coletados no verão (jan – fev de 2017 e 2018) e inverno (jun – jul de 2017 e 2018) nos horários de 04:00h e 13:00h (n=6). As letras destacam as diferenças estatísticas ($p<0,05$)..... 42

Figura 3 – A a D – Experimento de simulação do aquecimento ambiental em câmaras de “topo aberto” instaladas *in situ* sobre espécies rupícolas na montanha do Couto no Alto Itatiaia..... 54

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1– A a B – Dados climatológicos do Pico do Couto, Parte Alta do Parque Nacional do Itatiaia (2600 m)..... 24

Gráfico 2– A a D – Temperatura dos órgãos de quatro espécies da flora dos afloramentos rochosos do Alto Itatiaia, Serra da Mantiqueira, Brasil..... 36

Gráfico 3– A a D – Influência das temperaturas ambientais (T_{rocha} e T_{ar}) sobra a temperatura do mesofilo de espécies rupícolas dos afloramentos rochosos do Alto Itatiaia..... 37

Gráfico 4– A a D – Variação sazonal e diária no desacoplamento entre a temperatura do mesofilo e da rocha (ΔTmesof-rocha °C) em quatro espécies rupícolas do Alto Itatiaia (2400 m de altitude)..... 39

Gráfico 5– A a D – Variação sazonal e diária no desacoplamento entre a temperatura do mesofilo e do ar (ΔTmesof-ar °C) em quatro espécies rupícolas do Alto Itatiaia (2400 m de altitude)..... 40

Gráfico 6– Sazonalidade no conteúdo relativo de água em *F. itatiaiae*, *A. foliosa*, *Chionolaena isabellae* e *Barbacenia gounelleana* nos afloramentos rochosos do Alto Itaiaia. Dados coletados no inverno (jun – jul de 2017) e verão (jan – fev de 2017 e 2018) (n=6). O símbolo ł representa a ausência da parte aérea de *A. foliosa* durante os meses frios do inverno..... 41

Gráfico 7– A a C – Sazonalidade na composição dos pigmentos foliares (A e B) e razão clorofila a/b (C) em *Fernseea itatiaiae*, *Alstroemeria foliosa*, *Chionolaena isabellae* e *Barbacenia gounelleana* nos afloramentos rochosos do Alto Itatiaia, Serra da Mantiqueira, Brasil. Dados coletados no verão (jan – fev) e no inverno (jun – jul) de 2017 e 2018 (n=6). O símbolo ł representa a ausência da parte aérea de *A. foliosa* durante os meses frios do inverno..... 44

Gráfico 8– Comparação da Eficiência fotoquímica do fotossistema II em espécies dentro e fora de câmaras de “topo aberto” instaladas sobre a rocha no Alto Itaiaia..... 57

Gráfico 9– A a D – Análise das trocas gasosas e fluorometria em três espécies rupícolas do Alto Itatiaia – *Barbacenia gounelleana*, *Chionolaena isabellae* e *Fernseea itatiaiae* – ao longo da escala de aquecimento da folha ou do ar..... 59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C_3	Ciclo Fotossintético cujo aceptor primário é a Ribulose 1,6 bifosfato
CAM	Ciclo Fotossintético cujo aceptor primário é o Fosfoenol piruvato
ETR	*Electron Transport Rate* – Taxa de transporte de elétrons na fotólise
Fv/Fm	Eficiência Fotoquímica do Fotossistema II
H^+-ATPase	Transportador transmembrana de íons H^+ e sítio de síntese de ATP
HSP	*High shock proteins* – Proteínas de proteção ao choque térmico
IRGA	*Infra Red Gas Analyser* – Analisador de gases por infra-vermelho
OTC	*Open Top Chamber* – Câmaras de simulação de aquecimento de topo aberto
PAR	*Photosynthetic Active Radiation* – Radiação fotossinteticmante ativa
RWC	*Relative Water Content* – Conteúdo relativo de água
Tree Line	Limite de distribuição altitudinal das árvores
UV	Radiaççao Ultra-violeta (tipos A, B ou C)
VPD	*Vapour Pressure Deficit* – Déficit de pressão de vapor do ar atmosférico
PPFD	*Photosynthetic Photon Flux Density* – Densidade no fluxo de fótons da fotossíntese
Fo	Fluorescência mínima ou inicial

LISTA DE SÍMBOLOS

^{o}C	Grau Célsius
%	Porcentagem
ΔT	Diferença de temperaturas
<	Menor que
>	Maior que

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO GERAL.....	12
1	**ARCABOUÇO TEÓRICO-CONCEITUAL**.....	15
1.1	**O estresse térmico**.....	15
1.2	**Resfriamento/Congelamento**.....	15
1.3	**Aquecimento**.....	17
2	**OBJETIVOS DA DISSERTAÇÃO**	20
3	**ÁREA DE ESTUDO**.....	21
4	**ESPÉCIES ESTUDADAS**.....	25
5	**VARIAÇÃO SAZONAL E DIÁRIA DO ESTRESSE TÉRMICO EM ALTITUDES TROPICAIS**.....	27
5.1	**Introdução**.....	27
5.2	**Métodos**.....	30
5.2.1	Monitoramento da energia térmica.....	30
5.2.2	Eficiência fotoquímica do fotossistema II.....	31
5.2.3	Pigmentos foliares.....	32
5.2.4	Conteúdo relativo de água.....	33
5.2.5	Análises estatísticas.....	33
5.3	**Resultados**.....	34
5.3.1	Influência da variação térmica e sazonal sobre as espécies.....	34
	Eficiência fotoquímica do fotossistema II.....	41
5.3.2	Pigmentos foliares.....	42
5.3.3	**Discussão**.....	45
5.4	**AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE TÉRMICA DA FLORA DOS**	
6	**INSELBERGS DO ALTO ITATIAIA: OPEN TOP CHAMBERS E DETERMINAÇÃO DAS TEMPERATURAS LIMITES**.....	51
	Introdução.....	51
6.1	**Métodos**.....	53
6.2	Filogeografia e aspectos ecofisiológicos das espécies estudadas.....	53
6.2.1	Câmara de topo aberto.....	53
6.2.2	Experimento para determinação das temperaturas-limite.....	55

6.2.3 **Resultados**..... 56
7.3 Câmaras de topo aberto..... 56
6.3.1 Experimento para determinação das temperaturas-limite..... 58
6.3.2 **Discussão**..... 59
6.4 **DISCUSSÃO GERAL**..... 64
PERSPECTIVAS FUTURAS 67
REFERÊNCIAS..... 69
APÊNDICE A - Dados climatológicos do Alto Itatiaia, Serra da Mantiqueira Brasil 80
APÊNDICE B - Câmaras de topo aberto acoplada sobre *Chionolaena isabellae* no afloramento rochoso do Couto, Alto Itatiaia, Serra da Mantiqueira Brasil 81
APÊNDICE C - Efeito da sazonalidade na flora rupícola do Alto Itatiaia, Serra da Mantiqueira, Brasil 82

INTRODUÇÃO GERAL

O impacto do aumento de temperatura sobre os organismos representa um desafio contemporânero para a biologia da conservação. Neste sentido, o entendimento dos efeitos do aquecimento global motiva grande parte das pesquisas atuais na área das Ciências Biológicas. Mudanças na temperatura do planeta ocorreram em muitas ocasiões ao longo da história geológica da Terra. Para tanto, pode-se esperar que organismos sésseis, tal como as plantas (BRADSHAW, 1965), possuam, pelo seu passado ecológico-evolutivo, estratégias de aclimatação à variação térmica (WALTHER, 2003). Entretanto, mesmo no período Máximo Térmico do Paleoceno-Eoceno, quando o aquecimento global ocorreu no menor intervalo de tempo (6^{o} C em cerca de vinte mil anos) ao longo da história geológica, este durou milhares de anos (JARAMILLO et al. 2010), isto é, ainda assim, em intervalo de tempo maior do que a velocidade exibida pelas mudanças atuais. Portanto, as plantas viventes da atualidade enfrentam o desafio de apresentar uma plasticidade térmica necessária para manter o desempenho fisiológico e reprodutivo na escala de apenas algumas gerações, ou mesmo, dependendo da longevidade do indivíduo, dentro de apenas uma expectativa de vida (SLOT & WINTER, 2016).

A análise dos estudos de resistência/resiliência ao estresse térmico revela que o conhecimento sobre este tema é mais amplo para ambientes temperados, onde a variação da temperatura é marcada pela sazonalidade (CUNNINGGHAM & READ, 2003). Neste mesmo ambiente, o estudo sobre as respostas das plantas às baixas temperaturas se iniciaram mais cedo (veja os livros textos PRECHT ET AL., 1973; LARCHER & BAUER, 1981; SAKAI & LARCHER 1987), do que o estudo das respostas às altas temperaturas, que se tornam mais preementes na literatura recente com as atuais mudanças climáticas (WALTHER, 2003). Entretanto, as florestas tropicais são responsáveis por mais de um terço da Produtividade Primária Líquida do planeta (PAN et al., 2013), sendo assim, abarcam uma grande parte do ciclo de carbono terrestre. Este entendimento tem sido motivador de estudos sobre o impacto da variação térmica em ambientes de florestas tropicais (PARMESAN, 2006; CORLETT, 2011) e sua modelagem (COLWELL et al., 2008; CAVALERI et al., 2015).

Os efeitos da variação térmica sobre as plantas, apesar da diferença de escala entre ambientes tropicais e temperados, são preconizados como sendo similares e generalizáveis, tendo em vista que, os princípios bioquímicos da cinética das enzimas, seus efeitos na fotossíntese e respiração, e da diluição dos gases, são idênticos. Porém, é importante

considerar que existem ajustes na biofísica da folha (incluindo ajustes na estrutura anatômica e celular, EVANS & VON CAEMMERER, 2013; VON CAEMMERER & EVANS, 2014) e nos ecossistemas que podem alterar o resultado da variação térmica sobre o indivíduo e a comunidade (SLOT & WINTER, 2016).

Os ambientes tropicais, na sua generalidade, possuem estações climáticas com poucas variações térmicas, sendo os ambientes de topos de montanha uma excessão à esta regra. Alguns autores argumentam que esta estabilidade climática poderia não ter selecionado evolutivamente, nos trópicos, espécies capazes de se aclimatar amplamente à variação térmica (JANZEN, 1967; CUNNINGHAM & READ, 2003). Adicionalmente, é possível prever que as espécies tropicais estejam mais próximas das temperaturas limites para muitos dos processos fisiológicos (LLOYD & FARQUHAR, 2008). Ainda é oportuno considerar que o aquecimento térmico global pode fomentar o prolongamento das estação de crescimento nos ambientes temperados o que compensaria o menor desempenho fisiológico (MENZEL et al. 2006). Por outro lado, nos ambientes tropicais as estações de crescimento estão, muitas vezes, associadas apenas à pluviosidade, visto que a amplitude das temperaturas anuais estão já abarcam a faixa ótima e a estação de chuvas está associada ao verão e maior irradiação luminosa (CUNNINGGHAM & READ, 2003; SLOT & WINTER, 2016).

Os ambientes tropicais representam um mosaico de ecossistemas que não pode ser generalizado pelas florestas tropicais. Reguladas por fatores limitantes múltiplos (incidência luminosa, retenção hídrica, pluviosidade, temperatura, entre outros), as vegetações tropicais do Brasil alcançam a feição florestal quando o balanço hídrico do ecossistema permanece positivo na maior parte do ano e quando não há um excesso de drenagem no solo (p.ex. Restingas) ou empoçamento permanente (p.ex. Pântanos) (RIZZINI, 1997). Tal processo evidencia que a relação com a temperatura, como fator limitante, não é preponderante para a instalação de florestas.

As feições de vegetação tropical que se instalam em gradientes altitudinais têm sido utilizadas como fitorregiões cujos limites de distribuição de espécies estão, de fato, relacionados às questões do balanço térmico (BERRY & BJÖRKMAN, 1980; KÖRNER, 2007), como exemplo evidente há os limites de distribuição das espécies de palmeiras da Mata Atlântica (PORTELA, 2008). Os limites superiores da distribuição altitudinal, onde as temperaturas baixam (em média 5 °C a cada 1000 m de altitude; KÖRNER, 2007), determinam o encerramento da feição arbórea para início do predomínio da vegetação campestre (“tree line”), marcando a ineficiência competitiva do sistema de condução do

xilema secundário (PAULSEN, WEBER & KÖRNER, 2000; KÖRNER & PAULSEN, 2004). Os campos de altitude predominam, portanto, quando as temperaturas máximas se afastam das temperaturas limites para a manutenção da integridade bioquímica e estrutural de enzimas, e proteínas estruturais (aprox. 40 ^{o}C). O aumento da altitude em ambientes tropicais se relaciona com a amplitude térmica entre as estações climáticas, embora cada feição montanhosa possua suas peculiaridades (KÖRNER, 2007).

Os campos de altitude da Serra da Mantiqueira estão completamente imersos nos domínios da Mata Tropical Atlântica. Neste sentido, esta flora possui espécies cuja filogenia se diversificou nas florestas de mata atlântica, com a presença de espécies endêmicas, tais como, *Barbacenia gounelleana* (Velloziaceae) Beauverd e *Fernsea Itatiaia* (Bromeliaceae) (Wawra) Baker (Ribeiro et al., 2007), aliada a ocorrência de espécies Andino-patagônicas (VASCONCELOS, 2011). A predominante frequência de Asteraceae e a ocorrência de espécies anuais, como as do gênero *Alstroemeria*, confere a vegetação a feição de "páramos" (RIBEIRO et al., 2007; VASCONCELOS, 2011), flora típica de clima fortemente sazonal em temperatura. No presente estudo admitimos que é provável que a diversidade nas linhagens filogenéticas que compõe a flora dos campos de altitude do Itatiaia possa gerar diferenças nos potenciais de aclimatação ao estresse térmico (por frio ou calor) entre as espécies. Por exemplo, no Alto Itatiaia é possível observar o congelamento do mesofilo em espécies de Eriocaulaceae, enquanto, *Chionolaena* sp. (Asteraceae) pode manter flores nos meses mais frios do ano.

O topo de montanhas tropicais pode, portanto, aliar a presença de espécies tropicais com o fato de estarem sujeitas à variações climáticas de temperatura, que se aproximam ou ultrapassam as temperatura limites para processos bioquímicos importantes na fisiologia do vegetal. Vale considerar que a macrotopografia (direções cardeais das faces da montanha) e a microtopografia (tipo de substrato) podem influenciar este padrão térmico climático. Neste sentido, os campos de altitude são compostos predominantemente por duas conformações topográficas: os campos (ou solo desconsolidado) e afloramentos rochosos (ALVES, 2013). Nos afloramentos rochosos (doravante denominados *inselbergs*) o balanço térmico possui uma amplitude ainda mais pronunciada por influência do calor convectivo da rocha. Assim, com as temperaturas abaixo de zero do inverno e as temperaturas acima de 40°C provocadas no verão pela conversão de energia luminosa em calor pela rocha, impõe-se à flora que coloniza e habita este ambiente, os dois extremos de temperatura limites para os processos bioquímicos da célula vegetal.

1 **ARCABOUÇO TEÓRICO-CONCEITUAL**

1.1.**Estresse Térmico**

A temperatura afeta processos biofísicos e bioquímicos e, desta maneira, afeta fortemente a fisiologia das plantas que estão expostas às altas incidências de energia luminosa e às atmosferas frias e dessecantes. A aclimatação bioquímica, o crescimento através da fotossíntese, o desenvolvimento de tecidos jovens, a reprodução (através da redução da viabilidade das células reprodutivas) e o aumento da mortalidade por necrose dos tecidos são processos induzidos pela variação do ambiente térmico (SAKAI & LARCHER, 1987; LARCHER, 2000; SLOT & WINTER, 2016).

O estresse térmico é representado por três vias de respostas fisiológicas: *congelamento* - provocado por temperaturas abaixo de zero, *resfriamento* – alterações provocadas por temperaturas próximas ao congelamento, porém antes da formação do cristal de gelo (RUELLAND & ZACHOWISKI, 2010), e *aquecimento* – aumento de temperaturas acima de 45º C (O´SULLIVAN et al., 2017). Algumas das respostas encontradas nas plantas para estas injúrias são igualmente partilhados, independente da forma do estresse térmico, p.ex. a desidratação (LARCHER, 2000; LAMBERS et al., 2008) ou prejuízo a tecidos jovens e em crescimento (BJÖRKMAN, BADGER & ARNOLD, 1980).

A velocidade em que a planta é submetida ao estresse térmico pode influenciar no seu potencial de aclimatação (HIROSAKA et al., 2005; SLOT & WINTER, 2016). Tanto para o resfriamento, quanto para o aquecimento, as exposições graduais aos extremos de temperatura permitem ajustes bioquímicos (p.ex. dependentes de síntese metabólica, tal como as proteínas de choque térmico) da célula vegetal (ALLAKHVERDIEV et al., 2008; YAMORI et al. 2014; NIU & XIANG, 2018).

1.2 **Resfriamento/Congelamento**

As temperaturas ótimas dos processos de fotossíntese e respiração para espécies subtropicais e tropicais, em geral, ocorrem na faixa entre 25 e 35º C (ZHU et al., 2018). A redução das temperaturas foliares para 10 a 15º C costumam representar o período de perda de eficiência metabólica e representam o *resfriamento* (SAKAI & LARCHER, 1987;

YAMORI et al., 2010). Os danos por resfriamento podem ser vistos nas taxas de transporte mais lenta dos carboidratos, aumento da fotoinibição da fotossíntese, redução das taxas respiratórias (e portanto, redução de todo o metabolismo dependente de energia) e inibição de proteínas existentes (SAKAI & LARCHER, 1987).

Nas temperaturas de *resfriamento* a fluidez das membranas celulares começa a ser reduzida e porções da membrana ficam mais rígidas e diminuem a capacidade de transportar substâncias entre o meio extra e intracelular. Existe uma potencial diferença no ponto térmico de redução da fluidez que depende da composição dos ácidos graxos que constituem a membrana (SAKAI & LARCHER, 1987). Tipicamente, quanto maior a composição saturada dos ácidos graxos, mais facilmente as membranas celulares perdem a fluidez e passam ao estado semi-cristalino (GUY et al., 2008). Durante o processo de rustificação, as plantas podem alterar a proporção da composição de ácidos graxo de membrana. Este efeito de perda da fluidez das membranas induz a inibição do transportador H^+-ATPase, redução das reações de transdução de energia, perda de permeabilidade de solutos e redução de metabolismos dependentes de enzimas. A presença de carboidratos não-estruturais nos tecidos vegetais pode aumentar a resistência ao *resfriamento/congelamento*, aumentando a viscosidade do citosol e reduzindo as temperaturas de congelamento para valores significativamente mais baixas que zero (ÖGREN et al., 1997; MOLLO et al., 2011).

Conforme a temperaturas dos tecidos vegetais vai se aproximando de zero, o risco de início de formação dos cristais de gelo também aumenta. Neste sentido, a participação de partículas de nucleação é fundamental. A baixa presença de partículas adequadas a nucleação dos cristais pode levar ao fenômeno do *supercooling* onde apesar das temperaturas abaixo de zero, não há congelamento. Uma vez iniciada a formação do cristal de gelo, este pode evoluir em tamanho, lenta e indefinidamente, formando cristais de tamanho suficiente para perpassar as membranas celulares determinando à morte celular. Por outro lado, se as temperaturas baixarem rapidamente, formam-se cristais menores. A maioria dos ambientes não possui resfriamento com velocidade suficiente para a formação de cristais pequenos (SAKAI & LARCHER, 1987).

Durante a fase de cristalização de membrana, algumas espécies demonstram uma ativa extrusão de parte conteúdo de água do citosol para o espaço intercelular. Este, ao congelar, muitas vezes permite que o citosol se mantenha líquido. Contudo, se as temperaturas baixas mantêm o gelo intercelular por um período prologado, a célula pode

sofrer com estresse hídrico, em que o gelo exterior gera um potencial osmótico mais pronunciado que o do interior celular (LARCHER, 2000).

O metabolismo celular de plantas adaptadas à responder com aclimatação ao estresse térmico podem apresentar *HSP*, ou Proteínas de Choque Térmico. Existe grande diversidade de *HSP* e estas atuam protegendo a estrutura tridimensional das proteínas, para que estas não se dobrem ou tornem-se estendidas, levando a perda da estrutura original e/ou da atividade enzimática (SAKAI & LARCHER, 1987).

1.3 **Aquecimento**

A resultante térmica de uma planta representa a combinação de processos, tais como, entrada de energia como irradiação luminosa, índice de reflectância luminosa da epiderme, transmitância da radiação luminosa através da folha, entrada de calor convectivo das massas de ar atmosféricas circundantes, reemissão de fluorescência, produção de calor pelo metabolismo (Figura 1; representação dos fluxos de energia, extraído de Gates, 1980) e resfriamento através da evaporação estomática (SCHULZE & HALL, 1980). Nos trópicos, o conjunto destas trocas térmicas, frequentemente, induzem ao aquecimento de tecidos foliares (mais expostos) acima das temperaturas limites suportadas para manutenção da integridade bioquímica e estrutural da célula e a mesma pode exibir estratégias para contornar altas temperaturas (LAMBERS et al., 2008; SCHULZE & HALL, 1980), ou apresentar sintomas de injúrias, tal como o agravamento da fotoinibição (LARCHER, 2000) e a perda de clorofila.

Este balanço de energia, embora seja muitas vezes generalizado para a construção de modelos preditivos de aquecimento da vegetação (HUNTINGFORD et al. 2013), pode ser profundamente afetado pelo microclima do indivíduo (DAU, 1960; MEDINA, RIBEIRO & SCARANO. 2006) e arquitetura da planta (LARCHER, KAINMULLER & WAGNER, 2010). A temperatura de um órgão vegetal pode desviar significativamente do ar circundante (SCHULZE et al., 1980). A área foliar, a orientação da inserção do pecíolo no caule, a altura total do indivíduo, a rugosidade e a pilosidade da superfície foliar e ainda a distância entre os entrenós são exemplos de características estruturais que levam ao maior “desacoplamento” da temperatura da folha com a atmosfera (HUPP et al., 2017). Estes ajustes na morfologia/arquitetura da planta, em geral, reduzem a entrada de energia por irradiação

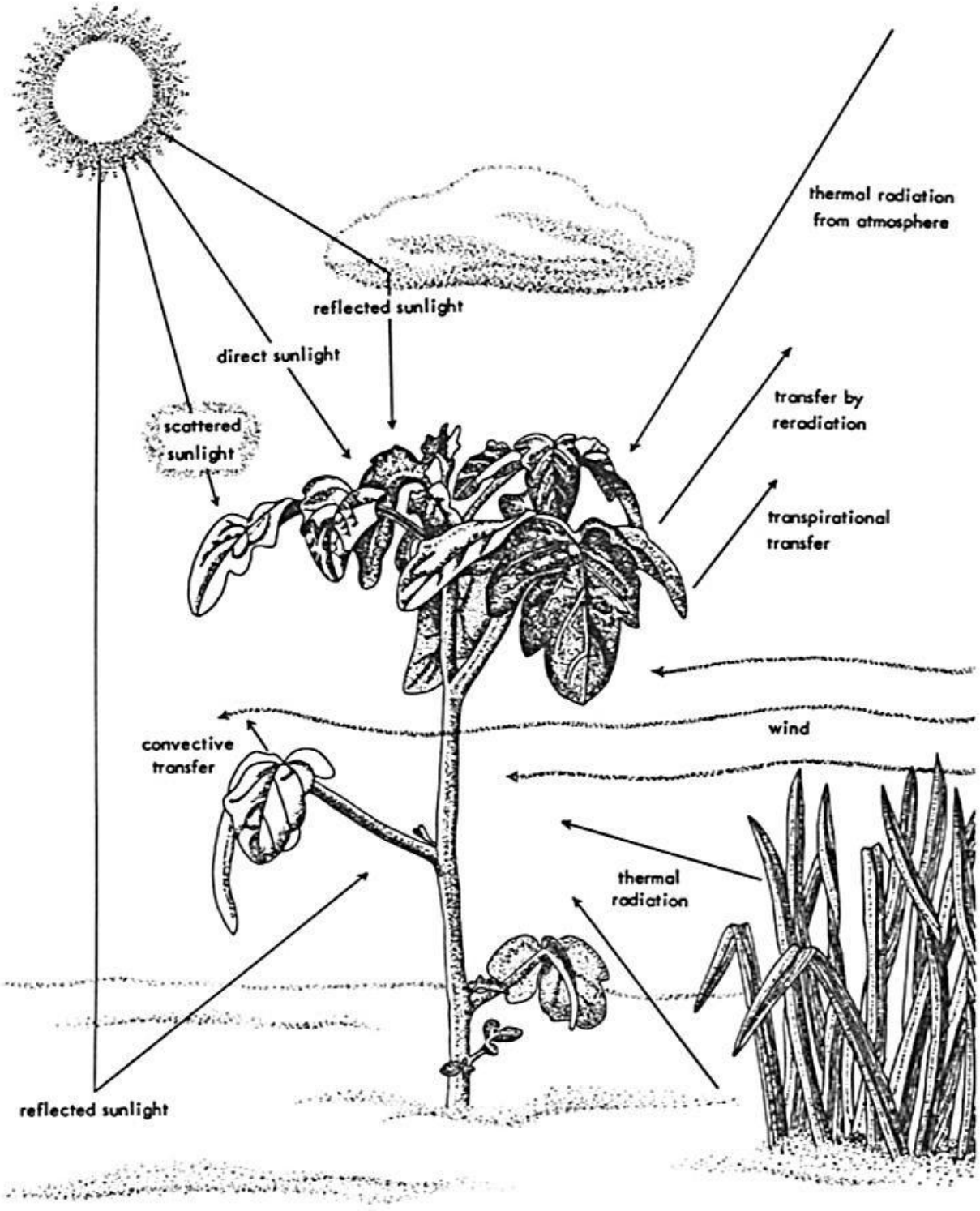
luminosa (radiação de onda curta) que seria convertida em calor nos tecidos vegetais (radiação de onda longa) (GATES, 1980).

Além dos mecanismos de impedimento de entrada de energia, o resfriamento por emissão de energia evaporativa, são mecanismos preponderantes em magnitude que se contrapõe ao aquecimento (YAMORI et al., 2014). Neste cenário, a condutância estomática admite importância adicional às trocas gasosas, tendo em vista que a abertura estomática valida o resfriamento pela transpiração concomitante com a perda de água. O comportamento estomático do tipo anisohídrico (SADE et al., 2012), portanto, impõe variação de potencial hídrico ao mesofilo, porém, poderia ser considerado um comportamento isotérmico pois os estômatos se mantém abertos e a temperatura do tecido estável. O comportamento estomático relacionado ao metabolismo CAM, inversamente, impõe ao mesofilo temperaturas, muitas vezes, acima de 55º C (LÜTTGE, 2004; LÜTTGE, 2007). O estresse hídrico, no mesmo sentido lógico, ao provocar o fechamento estomático, pode induzir ao estresse por temperatura.

Os trópicos, portanto, apesar de estáveis no efeito sazonal de variação de temperatura quando comparados aos ambientes temperados, podem guardar alguma história ecológica-evolutiva de estratégias de escape ou tolerância ao estresse térmico (JARAMILLO et al. 2010). É possível esperar que a estrutura e a bioquímica celular contenham mecanismos de compensação do paradoxo entre a dependência da entrada de energia para fotossíntese nos tecidos produtivos e a necessidade de evitar os efeitos do aquecimento no metabolismo (SLOT & WINTER, 2016).

O aquecimento nas células vegetais afeta a fluidez das membranas, aumentando a permeabilidade desta à passagem de solutos. O confinamento de espaços bioquímicos dentro da célula e mais especificamente dentro das organelas plastídeo e mitocôndria, são fundamentais para a formação de diferenças de potenciais (KRAUSE et al., 2010). Altas temperaturas na célula, além de afetar a cinética e integridade das enzimas, pode dificultar a transdução de energia nos processos metabólicos da fotossíntese e respiração (LAMBERS, CHAPENS & PONS, 2008).

Figura 1 – Trocas de energia entre a planta e seu ambiente através da radição, convecção e transpiração.



Fonte: GATES, 1980, f. 17.

Proteínas de ação anti-choque térmico *HSP* são encontradas em plantas que foram submetidas ao estresse por aquecimento. A produção de *HSP*s está relacionadas à períodos de exposição ao aumento de temperatura, mas também à exposição a outras fontes de estresse, tal como, déficit hídrico, lesão ou salinidade (KOTAK et al. 2007). Atuam de modo similar ao descrito no tópico *Resfriamento*, protegendo a estrutura tridimensional das proteínas e enzimas.

2 OBJETIVOS DA DISSERTAÇÃO

O objetivo desta dissertação é investigar as respostas fisiológicas à variação de temperatura de espécies que crescem sobre rochas localizadas em altas altitudes tropicais no Parque Nacional do Itatiaia. Para atingir este objetivo geral, serão realizados estudos com quatro objetivos específicos: (1) estudar o acoplamento da temperatura do mesofilo das espécies estudadas ao ambiente, (2) investigar a influência da variação sazonal e diária da temperatura na fotossíntese (fluorescência da clorofila) das espécies rupícolas do Alto Itatiaia, (3) simular o efeito do aquecimento global (aquecendo por volta de 3ºC com câmaras de "topo aberto") na escala do indivíduo e (4) determinar as temperaturas limites para a fotossíntese nos tecidos do mesofilo. Esta dissertação está dividida em dois capítulos, nos quais o primeiro tratará dos temas (1) e (2), e o segundo dos temas (3) e (4).

As hipóteses são que as espécies que foram filtradas apresentam desacoplamento da temperatura do ambiente de modo que apesar de sujeitas à extremos de temperatura, evitem este estresse; a variação diária de temperatura, aliada às altas irradiancias luminosas de topo de montanha, levarão à inibição fotoquímica, suplantando os extremos térmicos apresentados pela variação sazonal; que a simulação do aquecimento ambiental amenize os efeitos do extremo térmico do frio nas madrugas do inverno, e de outro modo, acentue os efeitos do extremo térmico do calor, no meio-dia do verão; e finalmente, que a tolerância térmica do aparato fotossintético seja maior para a espécie CAM, e a de origem filogeográfica no Cerrado brasileiro, e mais sensível nas espécies de origem Andino-Patagônica.

3 ÁREA DE ESTUDO

Os campos de altitude fazem parte do mosaico do bioma Mata Atlântica, ocorrendo acima de 1500 metros de altitude e associados a um sedimento rochoso de origem ígnea ou metamórfica (VASCONCELLOS, 2011). Na região Sudeste do Brasil, os campos de altitude são encontrados na Serra do Mar, Serra do Caparaó, e Serra da Mantiqueira. Por ser uma fitofisionomia, por definição, inserida na Mata Atlântica (RIZZINI, 1997), é possível observar a sua ocorrência nos topos de montanha, onde ocorre a transição da vegetação montana e alto montana para os campos abertos.

Apesar de se tratar de uma extensão da Mata Atlântica, os Campos de Altitude possuem uma fitofisionomia e clima mais semelhantes àqueles da região Andino-Patagônica, sendo consideradas por alguns autores os 'páramos brasileiros' (RIBEIRO, 2002; SAFFORD, 1999). Mesmo com altos índices pluviométricos anuais, a alta altitude faz com que os campos de altitude apresentem índices de ultra-violeta extremamente altos, temperaturas baixas e alta demanda evaporativa do ar.

Somando a presença dos solos rasos, ácidos e pobres em nutrientes, os Campos de Altitude consituem um mosaico campesino formado por vales de substrato terrícola pontuado por afloramentos rochosos. Apresentam uma vegetação adaptada à forte flutuação da disponibilidade hídrica, altas amplitudes térmicas sazonais e diárias e ao estresse mecânico, representado pelos ventos intensos, ao relevo frequentemente em aclive e à difícil fixação no substrato, quando rochoso.

Do ponto de vista ecológico-evolutivo, os campos de altitude são considerados ambientes relictuais pelo alto grau de endemismos e complexa dinâmica ecológica (JANZEN, 1967). Representam um mosaico de fitofisionomias determinadas pela variação de condições abióticas (ALVES, 2013), formando uma paisagem "adaptativa" de comunidades que se instalam em função da microtopografia (RIBEIRO, 2002), microclima, profundidade do solo e natureza do substrato (VASCONCELOS, 2011).

A área estudada nesta dissertação foi a montanha do Couto na Serra da Mantiqueira por representar um dos locais mais exposto à variação nas condições atmosféricas, dada sua orientação Sudoeste e exposição ao vale contíguo, determinando um ambiente de larga amplitude térmica diária e sazonal, em contraposição à menor variação encontrada no interior dos vales. A região do Couto está localizada no Parque Nacional do Itatiaia, e este guarda uma região montanhosa que ocorre na divisa dos estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São

Paulo entre as coordenadas geográficas 22º30'-22º33'S; 42º15'-42º19'W. O cume mais alto da região alcança 2789 m de altitude.

As condições macroclimáticas predominantes para o Parque Nacional do Itatitiaia são classificadas, segundo Köppen (1948), como Cwb (subtropical temperado com verão brando e chuvoso, invernos secos) nos lugares a cima de 1600 metros de altitude, e Cpb (mesotérmico com verão brando sem estação seca) nas partes baixas das encostas da montanha (FURTADO et al., 2001). A irradiação luminosa é alta, compatível com ambientes tropicais (Gráfico 2B). A temperatura média anual é de 11,4 °C, a temperatura máxima apurada foi de 21,4 °C no mês de fevereiro e a mínima de -6,4 °C em julho (FURTADO et al., 2001). A parte alta do Parque Nacional do Itatiaia evidencia temperaturas com valores abaixo de 0 °C em até sete meses, sendo em média 56 dias por ano (CONDACK, 2006). O climograma para o local é apresentado na Gráfico 2C com as médias obtidas para dados entre março de 2015 e Abril de 2018 e coincide parcialmente com o apresentado por Safford (pág. 700 em 1999a e pág. 717 em 1999b), cujos dados apresentam os registros de 1916 a 1940. É possível observar uma diminuição do volume do período super húmido (precipitação acima de 100 mm mensais e acima da curva de temperaturas médias mensais) quando comparado ao climodiagrama atual.

A pluviosidade é fortemente sazonal, com o verão chuvoso e inverno seco, com média três meses do ano com precipitação inferior a 50 mm (apêndice A figura B). A pluviosidade média anual é de 2273 mm, sendo mais intensas no mês de janeiro (388mm), os episódios de chuvas vão diminuindo no final de abril e a seca perdura até outubro. Em agosto ocorre em média oito dias de chuva com até 58 mm (CONDACK, 2006). Nos meses de junho e julho a umidade relativa do ar não ultrapassa de 70%, a umidade relativa absoluta ocorre em dezembro com 83% e a mínima ocorre em julho com 62%.

Apesar de se localizar em uma região tropical, sua sazonalidade se assemelha mais com de um ecossistema de ambiente temperado, visto que no inverno temperaturas alcançam valores abaixo de zero (RIBEIRO, 2002). Sua sazonalidade também implica em verões com dias mais nublados e episódios mais frequentes de neblina devido à alta umidade relativa do ar, e no inverno os dias são mais ensolarados e secos, levando a uma maior radiação luminosa (PAR) nessa estação (Gráfico 2A). As características climáticas sofrem fortes influências das frentes frias polares vindas da região Sul que vão de encontro ao maciço do Itatiaia (CONDACK, 2006).

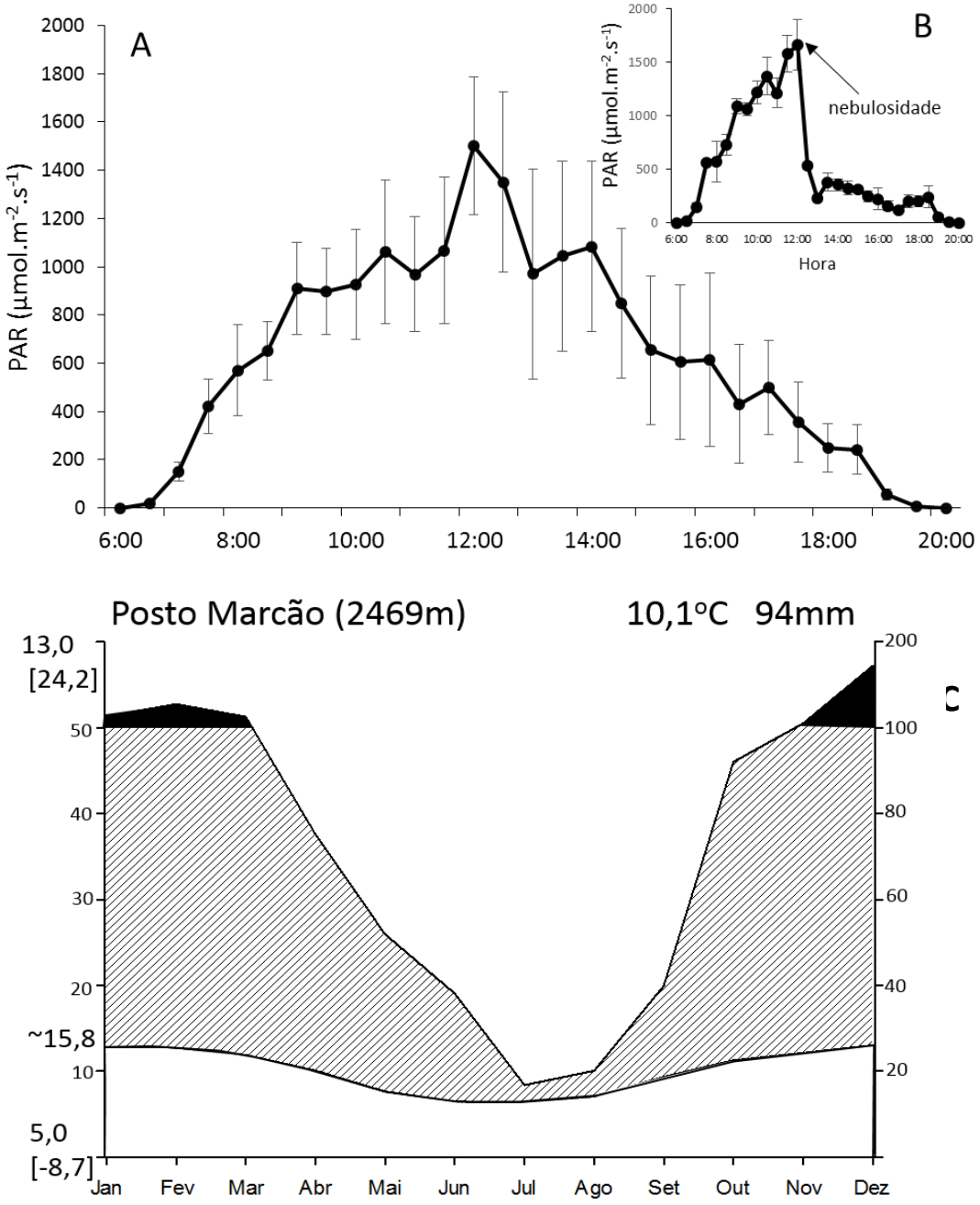
O afloramento rochoso da região tem origem plutônica*[1] datada do Terciário, sendo de rocha alcalina nefelina-sienito. Tal substrato é caracteristicamente poroso formado por cristais

pequenos e de dissolução elevada, é facilmente erodido pelos ventos e chuva, formando buracos e canaletas (SCARANO, 2007). A paisagem dos campos de altitude do Planalto do Itatiaia é descrito como uma formação vegetacional heterogênea, com encostas bem drenadas cobertas por gramíneas intercaladas por encostas úmidas dominadas por bambu-bengala (gênero *Chusquea*). Em locais protegidos do vento, há brejos e turfeiras. Afloramentos rochosos cortam a paisagem em todas as direções (RIBEIRO, 2002). Este mosaico ambiental reúne diferentes micro-hábitats associados à comunidades e nichos ecológicos específicos.

As previsões climáticas futuras apontam para um aquecimento entre 1,8° e 2,6 ° C para altitudes acima de 1800 m no sudeste brasileiro para os próximos 30 anos (ASSIS & DE MATTOS, 2016). A ocorrência de temperaturas extremas deve aumentar em frequência. Desta maneira, o déficit hídrico dos ecossistemas de topo de montanha deve se pronunciar (veja climodiagrama construído com temperaturas máximas mensais já apurado para o clima atual, APÊNDICE A figura A). Entretanto, a resultante climática para as previsões futuras permanece com certo grau de inexatidão, uma vez que depende das interações entre os fatores, e.g. aumento de frequência de nebulosidade diminui a demanda evaporativa do ambiente.

*****[1] Rochas ígneas intrusivas: formadas a partir de um lento resfriamento do magma em camadas profundas do subsolo, que afloram após a remoção das camadas sedimentares e metamórficas.

Gráfico 1. Dados climatológicos do Pico do Couto, Parte Alta do Parque Nacional do Itatiaia (2600m).



Legenda: **A**. Incidência luminosa expressa em RFA (µmol.m^{-2}.s^{-1}; Radiação Fotossinteticamente Ativa) durante os meses do verão (Janeiro e Fevereiro de 2017 e 2018). **B**. Declínio da RFA em dias nublados, onde a ocorrência da nebulosidade é indicada pela seta. **C.** Climodiagrama construído com datos de Fevereiro de 2015 a Abril de 2018 indicando temperatura média mensal (°C, linha inferior, referente ao eixo da esquerda) em conjunto de precipitação acumulada (mm, linha superior, referente ao eixo da direita). Dados obtidos em http://www.wunderground.com em Fev/2018 e referentes à estação metereológica do Parque Nacional do Itatiaia - Posto Marcão.

Fonte: O autor, 2018.

4 ESPÉCIES ESTUDADAS

Foram escolhidas as espécies *Chionolaena isabellae* (Asteraceae) Baker, *Fernseea itatiaiae* (Bromeliaceae) (Wawra) Baker; *Barbacenia gounelleana* (Velloziaceae) Beauverd; *Alstroemeria foliosa* var. *floribunda* (Alstroemeriacea) Beauverd (Figura 2). Dentre elas, as espécies são capazes de crescer isoladas na rocha (pioneiras) - *Fernseea itatiaiae* e *Barbacenia gounelleana* (Figura 2B e 2C, respectivamente), e expressam um importante papel ecológico no tamponamento das condições do substrato rochoso, criando um ambiente modificado que permite a entrada de outras plantas (RIBEIRO, 2002). Estas espécies são endemicas do planalto do Itatiaia e restritas aos afloramentos rochosos. As duas atuam como pioneiras sob a rocha nua e devido ao crescimento clonal, formam tapetes de vegetação. Essas espécies promovem maior retenção hídrica, formação de substrato e menor amplitude térmica, promovendo aumento na diversidade nas ilhas de vegetação por amenizar condições ambientais.

Fernseea itatiaiae é endêmica do Planalto do Itatiaia e da Serra Fina e está ameaçada de extinção, sendo restrita de ambientes rochosos. É uma bromélia perenifólia e tem folhas com capacidade de absorção de nutrientes e água pelos tricomas (SCARANO *et al*. 2001). Ribeiro (2002) aponta a espécie como uma possível facultativa C_3/CAM e a ressalta como pioneira com mais ampla distribuição, sendo indiferente à inclinação e diferenças na paisagem. Scarano *et al*. (2001) evidenciaram a grande plasticidade ecofisiológica da espécie no uso de água e nitrogênio nas circunstâncias de baixa disponibilidade de água, altas variações de temperatura e irradiação.

Barbacenia gounelleana é endêmica do Planalto do Itatiaia, restrita à ambientes rochosos em áreas abertas. Scarano *et al*. (2001) observou depressão fotossintética durante o dia nesta espécie, e tolerância à dessecação foliar. Seu crescimento vegetativo ocorre do centro para fora das ilhas de vegetação e gera grandes espaços com sedimento e folhas mortas entre seus ramos prostrados (RIBEIRO, 2002). Ribeiro (2002) indica seu metabolismo fotossintético como C_3 e a caracteriza como poiquilohidrica e poiquiloclorofitica.

As espécies de sucessão secundária conseguem se estabelecer na flora rupícola devido à facilitação promovida pelas pioneiras (RIBEIRO, 2002). Foram escolhidas a geófita *Alstroemeria foliosa* e a espécie ereta *Chionolaena isabellae* (Figura 2D e 2A, respectivamente). *A. foliosa* é endêmica dos campos de altitude do sudeste brasileiro e

abundante no planalto. Com a chegada da estação seca a espécie desaparece da paisagem dos campos, pois seus órgãos aéreos são abortados e seu bulbo subterrâneo providencia substâncias de reserva até o retorno da estação chuvosa (Apêndice C figuras C e D). *Chionolaena isabellae* possui ampla distribuição nos afloramentos rochosos e é endêmica do Brasil e dos campos de altitude. É perenifólia de hábito arbustivo e possui folhas com alta densidade de tricomas.

Figura 2 - Imagens das espécies estudadas *in situ* nos *inselbergs* da montanha do Couto no Parque Nacional do Itatiaia

Legenda: **A**. *Chionolaena isabellae* (Asteraceae) Baker; **B**. *Fernseea itatiaiae* (Bromeliaceae) (Wawra) Baker; **C**. *Barbacenia gounelleana* (Velloziaceae) Beauverd; **D**. *Alstroemeria foliosa* (Alstroemeriaceae) Beauverd.
Fonte: O autor, 2017.

5 VARIAÇÃO SAZONAL E DIÁRIA DO ESTRESSE TÉRMICO EM ALTITUDES TROPICAIS

5.1 Introdução

Os *inselbergs* do Parque Nacional do Itatiaia encontram-se acima de 2300 m de altitude e destoam dos ambientes ao redor (ex. campos de altitude, floresta de chusquea, áreas alagadas) (RIBEIRO, 2002) pelas características rupícolas de pouca quantidade ou ausência de solo, baixa retenção hídrica e cujos extremos de temperatura são amplificados pelas intensas trocas de calor convectivo com o substrato rochoso. Desta maneira, o ambiente fisico impõe uma barreira à colonização da rocha (POREMBSKI, 2007). Mais além, os afloramentos rochosos são ambientes descontínuos onde ilhas de vegetação distintas formam-se de acordo com as peculiaridades da microtopografia da rocha, da composição de espécies e de suas interações (RIBEIRO, 2002). Os *inselbergs* formam um conjunto de moitas formando um mosaico de fragmentos de vegetação em uma matriz de rocha inóspita (RIBEIRO, 2002; POREMBSKI & BARTHLOTT, 2000).

Apesar de ser um ambiente extremo, as superfícies rochosas são consideradas ambientes estruturalmente estáveis na escala geológica (RIBEIRO,2002), visto que se trata de um ambiente de formação antiga e isolado (topo de montanha). Porembski (2007) especula que os efeitos do isolamento geográfico dos ambientes de topo de montanha, em conjunto com a idade geológica, contribuíram para a diferenciação de populações locais que compõem a alta diversidade genética dessas regiões.

Espécies encontradas nos *inselbergs* muitas vezes são restritas à esses ambiente de topo de montanha, apesar de agregar fatores extremos ou estressantes quando comparados a ambientes a nível do mar (SAFFORD, 1999a). Aliados ao isolamento geográfico, distintas condições abióticas e estabilidade, é esperado não só que a ocorrência de formas de vidas e estratégias fisiológicas nos *inselbergs* seja distinta das vegetações circundantes, mas como também ocorra convergência evolutiva nas formas e estratégias vegetais para colonização e sobrevivência ao ambiente rupícula (SAFFORD, 1999a; POREMBSKI, 2007).

Estudos comparativos da flora do Parque Nacional do Itatiaia com outros ambientes da América do Sul, aproximam suas características não apenas florísticas mas também climáticas e geológicas com os páramos equatorianos, venezuelanos, peruanos, andinos e patagônicos (SAFFORD, 1999b; RIBEIRO, 2002; VASCONCELOS, 2011; ALVES, 2013). Vale ressaltar que houve fraca correlação com ambientes do sul e sudeste do Brasil, sugerindo que

afinidades florísticas estão mais correlacionadas com a similaridade em fisionomia geografia física, do que a proximidade em distância (POREMBSKI, 2000; BURKE, 2003; ALVES, 2013). O que é corroborado pelo fato das montanhas do Itatiaia serem mais semelhantes floristicamente com as montanhas andinas, que superam em altitude os 2000 metros, do que elevações menores e mais próximas, como a Serra do Cipó e São José (RIBEIRO, 2002). Tais correlações mostram que além de serem um componente 'temperado' em uma matriz tropical, os campos de altitude do Parque Nacional do Itatiaia ofereceram oportunidades para que espécies da mata atlântica, cerrado, da cordilheira dos andes até a patagônia se fixassem e diferenciassem (SAFFORD, 1999b; RIBEIRO, 2002).

O gradiente altitudinal é muitas vezes visto na literatura como um conceito linear, onde há consequências previsíveis para determinado aumento da elevação e existem fatores ambientais que são atrelados fisicamente com aumento da elevação (ex. nebulosidade, temperatura e pressão atmosférica) e outros que não estão diretamente corelacionados, tais como umidade, intensidade de vento que não estão relacionados (KÖRNER, 2007). Por não existir um modelo de montanha, os dados coletados em gradientes altitudinais irão refletir efeitos combinados de fatores regionais e fenômenos globais de altitude (KÖRNER, 2007). Mais do que fazer uso de um olhar mecanístico (de relação causa-efeito evidente) das características abióticas com altitude, a descrição livre do ambiente montanhoso evita associações errôneas e propõe uma análise mais clara da influência da altitude nos ambientes de topo de montanha.

Os *inselbergs* do Parque Nacional do Itatiaia apresentam baixa riqueza de espécies quando comparados com a Mata Atlântica, porém comportam amplo espectro de formas de vida (POREMBSKI, 2007). Devido às condições particulares de crescimento, as espécies que lá ocorrem apresentam adaptações à alta radiância luminosa, estresse térmico e baixa disponibilidade hídrica aliada à fortes demandas evaporativas do ar (SAFFORD, 1999a; POREMBSKI, 2000; BURKE, 2003; RIBEIRO, 2002; CONDACK, 2006). Estudos de atributos foliares e potencial de hidratação de espécies dos campos de altitude no período de seca mostraram que não há significativa mudança no potencial de hidratação das espécies analisadas, sinalizando diferentes estratégias para o uso da água e que as plantas do Planalto do Itatiaia são predominantemente hidroestáveis (CAMERIK et al., 1981). Entretanto, espécies identificadas como importantes na colonização sucessional dos *inselbergs* por Ribeiro (2002) não foram estudadas quanto à resistência à seca por Camerik *et al*. (1981).

Porembski (2007) já ressaltava a importância de condições ambientais severas dos *inselbergs* como força motriz na evolução de estratégias ecofisiológicas refinadas nos vegetais, tais como plantas vasculares poiquilohídricas (observado principalmente em membros da família Velloziaceae). Traços evolutivos de tolerância à desidratação da célula vegetal são raros em plantas vasculares, e tal fator adaptativo é determinante para a colonização da rocha exposta, onde apenas líquens, cianobactérias e musgos ocorrem (POREMBSKI & BARTHLOTT, 2000). A vegetação insular dos *inselbergs* depende amplamente do efeito fundador das moitas, e da ocorrência de espécies facilitadoras iniciadoras de sucessão (RIBEIRO, 2002). A entrada dos musgos e das plantas vasculares, formando "tapetes" sobre a rocha ameniza a amplitude térmica, e produz a formação de um "proto-solo", implicando em maior retenção hídrica. Desta maneira, ao alterar as condições físicas do ambiente, as espécies pioneiras atuam como ampliadoras da diversidade, facilitando a entrada e o estabelecimento de outras espécies de plantas nas ilhas de vegetação. Mais além, as espécies facilitadores têm importante papel ecológico por promoverem maior diversidade e riqueza nos *inselbergs*, e apresentam resistência aos extremos do ambiente rupícola que plantas de sucessão mais tardia, não apresentarão.

Como já foi descrito, o substrato dos afloramentos rochosos amplia os extremos de temperatura devido ao calor convectivo proveniente da rocha, alto grau de exposição e aos solos rasos e pobres (MEIRELLES, DE MATTOS & SILVA, 1997; RIBEIRO, 2002; POREMBSKI, 2007). Consequentemente, os *inselbergs* extrapolam as temperaturas limites da fotossíntese (35-40 ºC e conseguem chegar a 0 ºC (congelamento) durante à noite, apresentando frequentemente amplitude térmica de mais de 20 º C na escala diária. Entender o balanço energético desse ambiente é fundamental para compreensão da sucessão ecológica e traços evolutivos envolvidos necessários para conquista do ambiente rupícola. Porembski & Barthlott (2000) indicam que iniciativas de conservação das espécies e vegetação do Planalto deveriam focar no grupo de pioneiras vasculares tolerantes à seca que formam tapetes, pela posição de base na sucessão ecológica da vegetação sobre a rocha e por apresentarem traços adaptativos distintos como poiquilohidria. Ao estudar as pioneiras facilitadoras, é vital a compreensão do aparato morfo-fisiológico para interpretar os processos ecológicos das ilhas de vegetação, sua dinâmica e arquitetura. De forma que seja possível, em futuros estudos, prever o quanto mudanças climáticas e impactos ambientais irão afetar a sobrevivência das espécies.

Neste capítulo, o objetivo é investigar as respostas fisiológicas à variação de temperatura de quatro espécies que crescem nos *inselbergs* do Parque Nacional do Itatiaia – duas colonizadoras da rocha nua e duas relacionadas ao aumento de diversidade das ilhas de vegetação. A hipótese é de que a variação térmica diária é mais significativa que a variação sazonal e impõe o estresse de maior magnitude no aparato fotossintético para as espécies rupícolas do Alto Itatiaia. Adicionalmente, a hipótese esperada é que as espécies inciadoras de sucessão apresentarão maior desacoplamento das temperaturas do ambiente físico, enquanto que as espécies tardias na sucessão serão mais sensíveis à variações do ambiente.

Para alcançar este objetivo avaliamos as flutuações de temperatura nas plantas e no ambiente ao longo de dois anos e simultaneamente avaliamos o estado de hidratação, a competência do aparato fotoquímico, e a composição dos pigmentos foliares.

5.2 **Métodos**

5.2.1. Monitoramento da energia térmica

Para compreender como as plantas rupícolas apresentam seu balanço térmico, foram medidos os valores da temperatura de componentes abióticos (ar, rocha e substrato) e de estruturas vegetativas das espécies estudadas (caule, broto/centro da roseta, superfície foliar e temperatura do mesofilo). O grau de acoplamento foi considerado como a simples diferença térmica entre os corpos, isto é, o Δ de temperatura entre o ambiente e o órgão.

As variáveis de trocas térmicas foram estimadas pela diferença das temperaturas entre dois corpos. Os índices de trocas térmicas entre os ambiente e a planta, tal como representados como a diferença entre a temperatura do mesofilo e a rocha ($\Delta T_{Mesofilo\text{-}Rocha}$) e entre o mesofilo e o ar ($\Delta T_{Mesofilo\text{-}Ar}$), demonstraram as direções das trocas de calor convectivos somadas ao resfriamento evaporativo. Os valores das diferenças térmicas, quando próximos do zero, (mais próximas do eixo x) foram consideradas como o grau de acoplamento entre a temperatura do órgão (caule, folha ou broto) a temperatura do ambiente (rocha e ar). Por conseguinte, quanto mais os valores se distanciam do eixo, mais desacoplados do ambiente o órgão analisado está.

As amostragens foram feitas em 6 indivíduos de cada espécie em dois períodos do dia, entre 4h e 7h da manhã (período das temperaturas mais baixas) e entre 11h e 15h (período mais quente do dia). A sazonalidade foi amostrada para a estação chuvosa (~verão) nos meses de janeiro e fevereiro e, para a estação seca (~inverno) nos meses de junho e julho (2017 e

2018). A espécie *A. foliosa* não foi amostrada durante a estação seca devido à perda da parte aérea.

As temperaturas foram mensuradas com termômetro de contato do tipo Termopar, de sensor K (Fluke t3000). As temperaturas do caule, broto e superfície foliar foram tomadas na superfície do órgão. A temperatura do mesofilo foi tomada em uma seção transversal que permitiu o acesso a parte interna do mesofilo, onde foi acoplada a ponteira tipo k do termopar.

Amostragens-piloto mostraram que a temperatura tomada na superfície foliar difere da temperatura tomada no mesofilo, com uma diferença significativa entre 2 e 5 °C. Para tanto, neste estudo utilizamos as temperaturas tomadas no interior do mesofilo ao considerar as interações com a fotoquímica foliar porque estas estão mais diretamente relacionadas com o ambiente em que ocorrem as reações. Mantivemos o registro da temperatura da superfície foliar ao realizarmos as comparações de temperatura com os outros órgãos analisados.

5.2.2. Eficiência fotoquímica do fotossitema II

Análises da fluorescência da clorofila são amplamente utilizados como indicadores de estresse na conversão de energia luminosa em energia química. Podendo ser positivamente correlacionados com danos nos tecidos causada por estresse térmico (KRAUSE el al., 2010; 2013).

Medidas da eficiência fotoquímica do fotossistema II (Fv/Fm) (eficiência quântica máxima na qual luz é absorvida pelo fotossistema II e os centros de reação estão abertos em estado oxidado) foram realizadas com um fluorômetro (Photosynthesis Yield Analyzer Mini-Pam, Heinz Walz). A razão Fv/Fm é um parâmetro que informa sobre alterações na eficiência de conversão da energia eletromagnética em energia química, a diminuição nesses valores pode indicar fotoinibição da fotossíntese. Maxwell & Johnson (2000) identificaram que plantas submetidas a condições não estressantes apresentam valores máximos de Fv/Fm por volta de 0,82.

Adicionalmente, ainda para a análise da influência da temperatura na fotoquímica das espécies do Itatiaia, foram registrados os valores de Fo (fluorescência mínima) em razão de estes refletirem a sensibilidade do Fotossistema II aos danos causados pela temperatura (KRAUSE et al., 2010; ZHANG et al., 2012; CURTIS et al., 2014; KRAUSE et al., 2015; CURTIS et al., 2016).

A amostragem da fluorescência da clorofila foi feita de modo concomitante à da temperatura das estruturas vegetais, de modo a permitir que pudessem ser feitas correlações. As mensurações foram realizadas em seis indivíduos de cada espécie estudada.

As leituras foram feitas em folhas que foram adaptadas ao escuro, com uso de um clipe por 30 minutos antes da medição. No procedimento, o sensor de fibra óptica foi mantido a uma distância de aproximadamente 2 cm e com ângulo de incidência de 90º constantes na folha.

5.2.3 Pigmentos foliares

Para o estudo de pigmentos fotossintéticos presentes nas folhas das espécies selecionadas, foram feitas duas coletas em 2017 e 2018 (no período chuvoso, no mês de janeiro, e outra na estação seca no mês de julho).

Amostragens sazonais foram realizadas para melhor descrever a composição dos pigmentos foliares no tempo, visto que para algumas das espécies estudadas existem relatos na literatura direcionando como poiclorofíticas (com base no aspecto visual), ou seja, as espécies apresentariam significativas variações no conteúdo de clorofila ao longo das estações (RIBEIRO, 2002). As mensurações dos pigmentos foram realizadas com sub-amostras de 2 cm² de área foliar.

Depois de coletadas, as amostras foram fotografadas em papel milimetrado,em seguida seccionadas e imersas em frascos livres de luz com volume de 3 mL de álcool absoluto. O software Image J foi usado para determinar a área de cada amostra foliar a partir imagem. Após um período de, em média, dez dias, as frações dos fracos apresentaram perda total da coloração verde, sendo assim, a clorofila foi julgada como extraída. A determinação do conteúdo de pigmentos foi determinada por espectrofotometria com alíquotas de 1 mL. As soluções com extratos de pigmentos fotossintéticos em álcool absoluto foram medidas em três diferentes comprimentos de onda (470, 648,6 e 664,2 nm) em espectrofotômetro Shimadzu UV-1800. As concentrações de pigmentos por volume de solução (µg/mL) foram calculadas segundos as fórmulas de Lichtenthaler (1987):

$$\text{Clorofila } a = 13{,}36A_{664{,}2} - 5{,}19A_{648{,}6}$$

$$\text{Clorofila } b = 24{,}43A_{648{,}6} + 8{,}12A_{664{,}2}$$

$$\text{Clorofila } a+b = 5{,}24A_{664{,}2} + 22{,}24A_{648{,}6}$$

$$C(\text{xantofilas+carotenóides}) = 1000A470 - 2{,}13Ca - 97{,}64Cb/209$$

Em seguida, os valores obtidos para a concentração dos pigmentos foram correlacionados com a área das amostras e os dados foram expressos em mmol/cm² por mililitro de extração.

5.2.4 Conteúdo relativo de água nas folhas

A desidratação, causada como um estresse adicional ao inverno de temperaturas rigorosas (LARCHER et al., 2010), foi estimada pela variação sazonal do conteúdo relativo de água. Para isso, amostras foliares foram coletadas durante os meses de janeiro e julho em 2017 e janeiro de 2018. Após a coleta do material em campo, foram mantidos seladas em isopor com gelo para preservar o conteúdo instantâneo de água. Em laboratório foram pesadas com balança de precisão e em seguida as amostras foram mantidas por três dias em meio aquoso para atingir a saturação da hidratação (100%).

O peso total de conteúdo de água foi estimado na balança de precisão. Em seguida, as amostras foliares foram dessecadas à temperatura de 50 ºC na estufa durante dois dias, de modo a alcançar o peso seco. O conteúdo relativo de água (Relative Water Content) foi calculado como a massa de água instantânea presente na folha em relação ao conteúdo máximo que a mesma folha pode conter (*sensu* Meirelles et al., 1997).

5.2.5. Análises estatísticas

O conjunto dos resultados foi previamente tratado através de análises descritivas para que o comportamento das variáveis pudesse ser determinado. A partir da categorização da distribuição dentro da curva normal, seguiu-se com análises paramétricas.

Os valores de temperatura dos órgãos entre os extremos de temperatura diários e entre os extremos de temperaturas sazonais foram comparados através de Análise de Variância "three way", onde os fatores testados foram "espécies", "variação diária" e "variação sazonal". Em seguida, a influência da temperatura da rocha e da temperatura do ar sobre a temperatura do mesofilo foi testada através da regressão linear.

O índice de desacoplamento, representado como a diferença de temperatura entre a rocha e o mesofilo e o ar e o mesofilo, foi comparado entre os extremos diários e os extremos sazonais utilizando Análise de Variância "two way". Nesta análise, o efeito das espécies não foi incorporado, uma vez que as diferenças específicas já foram estabelecidas na análise da temperatura dos órgãos.

A análises da eficiência fotoquímica da fotossíntese (Fv/Fm), bem como a fluorescência mínima (Fo), foram analisados quanto a variação diária e sazonal e, ainda, o efeito do experimento de simulação de aquecimento através das câmaras de topo aberto. Neste sentido, foram usadas análises de variância, novamente com os fatores "variação diária", "variação sazonal" e, no caso do experimento, "influência da câmara de topo aberto".

Os pigmentos foliares e o conteúdo relativo de água foram comparados por análise de variância "two way", com os fatores "espécies" e "variação sazonal". O efeito da variação diária foi excluído por que as alterações nestas variáveis são melhor percebidas na escala de tempo de vários dias.

As análises foram feitas com o auxílio do *software* Sigmastat 2.0, e os gráficos foram confeccionadas no Excel 13.

5.3. **Resultados**

As análises do potencial de desacoplamento das plantas ao ambiente, da influência variação sazonal e diária da temperatura sobre a fotoquímica e, finalmente, dos efeitos da simulação de aquecimento mostraram que as quatro espécies estudadas possuem estratégias distintas, não sendo possível estabelecer um padrão único. Mais além, a comparação entre as espécies de mesmo grupo funcional (pioneiras ou secundárias) não mostrou similaridades nas respostas.

5.3.1. Influência da variação térmica diária e sazonal sobre as espécies

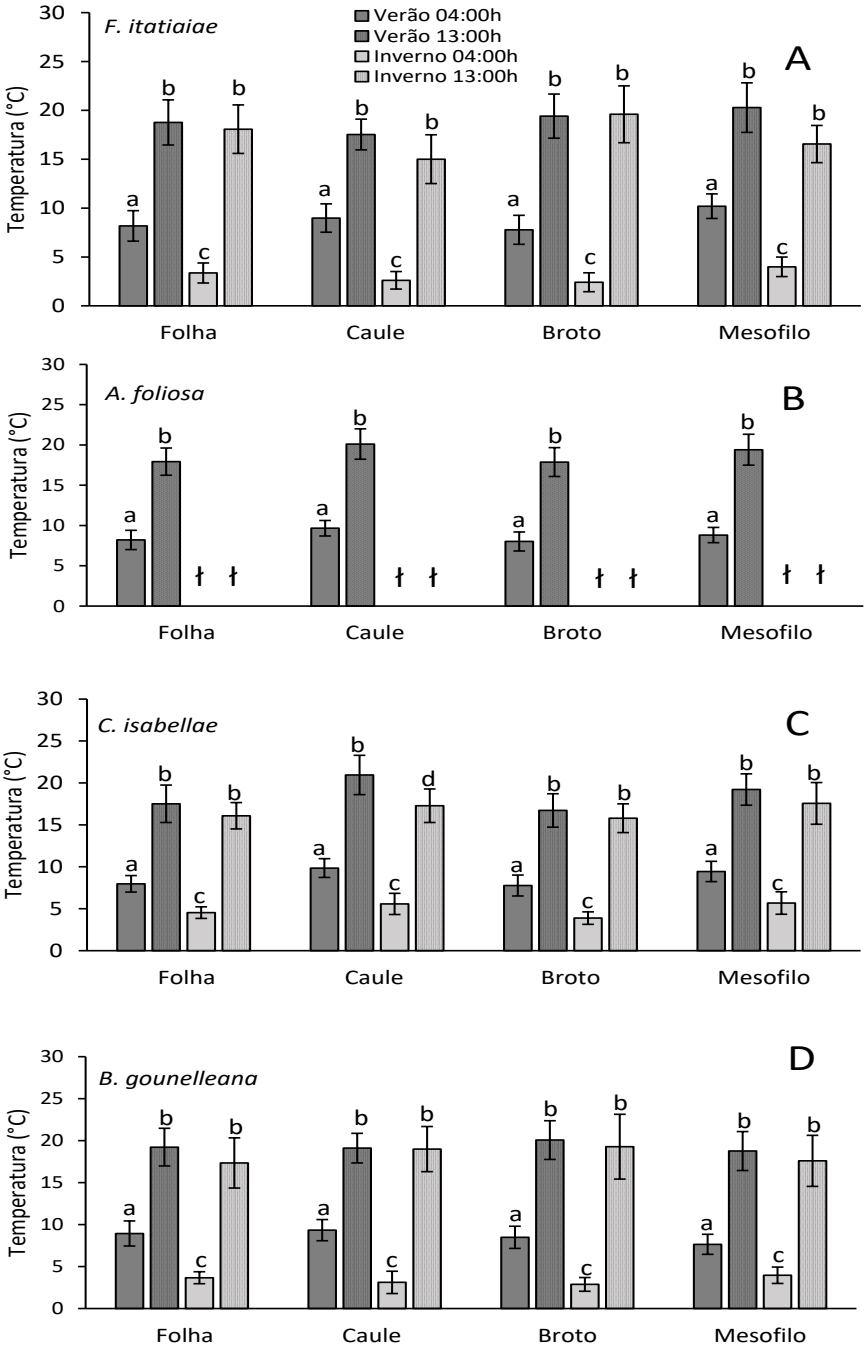
A amplitude de variação térmica em todos os órgãos vegetais analisados (folha, caule, broto e mesofilo) é substancialmente maior dento de um único dia do que entre as estações (Gráfico 2). Pode-se observar que as espécies tem variação diária de no mínimo 10°C entre o amanhecer e meio-dia no verão, enquanto no inverno esta diferença é ainda maior e pode atigir até 22°C (broto de *B. gounelleana*, Fig.4D). Os órgãos apresentaram o mesmo padrão de de variação de temperatura, independente da arquitetura da espécies. Para as espécies analisadas, mesmo plantas com folhas dispostas em rosetas não apresentaram maior proteção térmica do broto.

O final da madrugada representou o momento mais extremo em relação à temperaturas, conforme esperado, contudo mesmo neste período (para os anos de 2016 e

2017, abrangência deste estudo), não foram registradas temperaturas internas dos órgãos abaixo de zero para todas as espécies, mesmo com registros para a temperatura do ar.

As temperaturas ambientais – Temperatura da rocha e Temperatura do ar – e a temperatura do mesofilo foram fortemente correlacionadas (Gráfico 3), embora a espécie e sua arquitetura tenha mostrado influência em qual fator (rocha ou ar) é significativamente relacionado com a temperatura do mesofilo. O coeficiente de determinação das regressões informa que a temperatura da rocha tem maior poder explicativo para justificar o aquecimento do mesofilo, quando comparado com o ar. *Barbacenia gounelleana* mostrou interação com ambos fatores abióticos. A rocha possui maior calor latente e calor específico, de forma que a rocha é aquecida pela radiação de onda curta e aquece o ar circundante e o mesofilo. Apenas para *A. foliosa*, planta de arquitetura ereta e folhas membranáceas, a temperatura do ar é mais informativo do que a rocha para justificar o aquecimento do mesofilo.

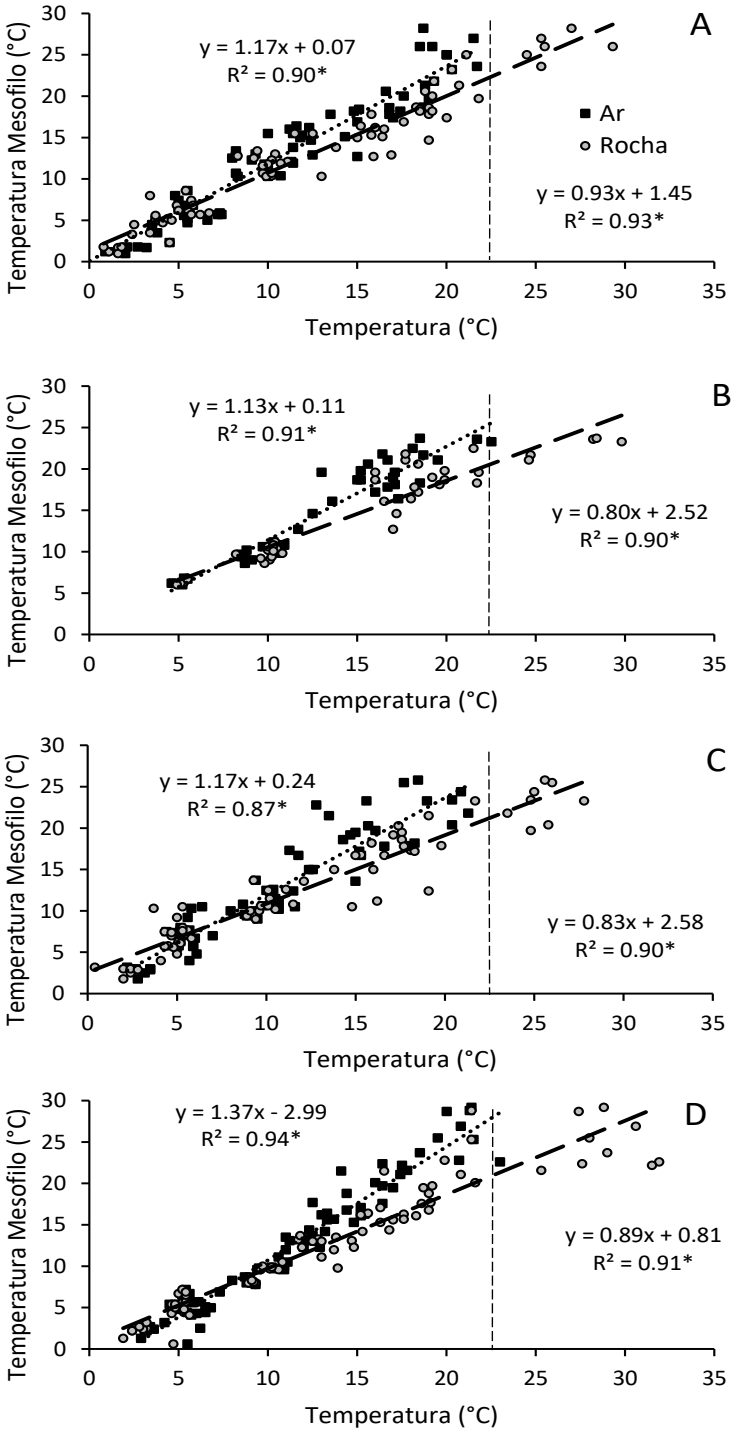
Gráfico 2 – Temperatura dos órgãos de quatro espécies da flora dos afloramentos rochosos do Alto Itatiaia, Serra da Mantiqueira, Brasil.



Legenda: **A**. *Fernseea itatiaiae* **B**. *Alstroemeria foliosa*. **C**. *Chionolaena isabellae*. **D**. *Barbacenia gounelleana*. Dados coletados no verão (jan-fev de 2017 e 2018) e inverno (jun-jul de 2017e 2018) às 04:00h e as 13:00h (n=6). O símbolo ł representa a ausência da parte aérea de *A. foliosa* durante os meses frios do inverno. As letras denotam diferenças estatísticas.

Fonte: O autor, 2018.

Gráfico 3 – Influência das temperaturas ambientais (T_{rocha} e T_{ar}) sobra a temperatura do mesofilo de espécies rupícolas dos afloramentos rochosos do Alto Itatiaia.

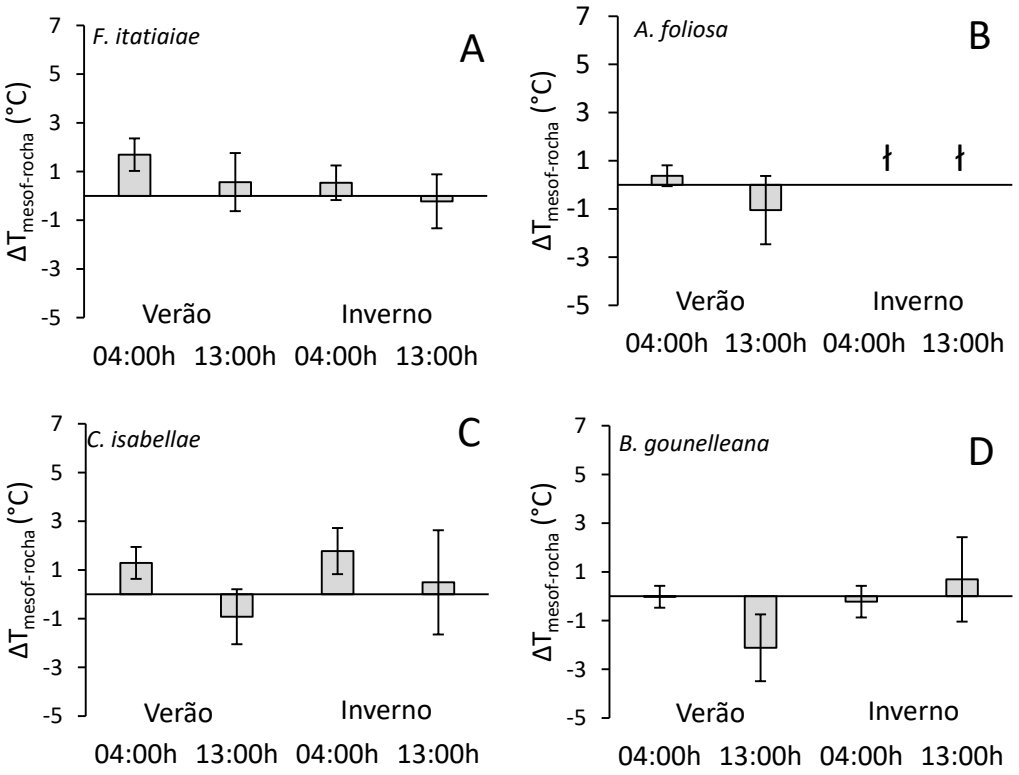


Legenda: **A**. *Fernseea itatiaiae*. **B**. *Alstroemeria foliosa*. **C**. *Chionolaena isabellae*. **D**. *Barbacenia gounelleana*. Os asteriscos denotam significância estatística

($p<0,05$). A linha pontilhada destaca que as temperaturas do ar registrdas não ultrapassaram 23°C.
Fonte: O autor, 2018.

O desacoplamento entre a temperatura interna da folha e o ambiente está representado pela diferença entre a temperatura do mesofilo e da rocha ($\Delta T_{Mesofilo-Rocha}$) e a diferença entre a temperatura do mesofilo e do ar ($\Delta T_{Mesofilo-Ar}$). As espécies variaram em seu grau de desacoplamento ao ambiente (Gráficos 4 e 5). *Fernseea itatiaiae* estava acoplada com a temperatura da rocha em todas as amostragense e mostrou mesofilo 3°C a cima da temperatura do ar, com exceção das manhãs de inverno (Gráficos 4A e 5A). *Barbacenia gounelleana* apresentou acomplamento com a rocha nas madrugadas do verão e inverno, enquanto que o acoplamento do ar ocorreu somente durante as manhãs no verão, o mesofilo durante o dia mantinha-se aproximadamente 3°C a cima da temperatura do ar em ambas as estações (Gráficos 4D e 5D). As espécies *C. isabellae e A. foliosa* seguiram um comportamento semelhante, onde o acoplamento com a rocha ocorreu durante o verão e o acoplamento com o ar era mais forte pela manhã (Gráficos 4B e 5B, 4C e 5C). Vale ressaltar que os valores mínimo e máximo de temperatura do mesofilo alcançados por cada espécie variou: *F. itatiaiae* (0,3° C e 28° C), *B. gounelleana* (0,6° C e 29,2° C), *C. isabellae* (2,5° C e 25° C) *A. foliosa* (6,0° C e 23° C). Apenas *B. gounelleana* apresentou valores negativos (-2° C na temperatura do caule). No geral, as espécies superaram a temperatura da rocha no inverno, sugerindo que a maior incidência luminosa (radiação de onda curta) intensificava trocas de calor por convecção.

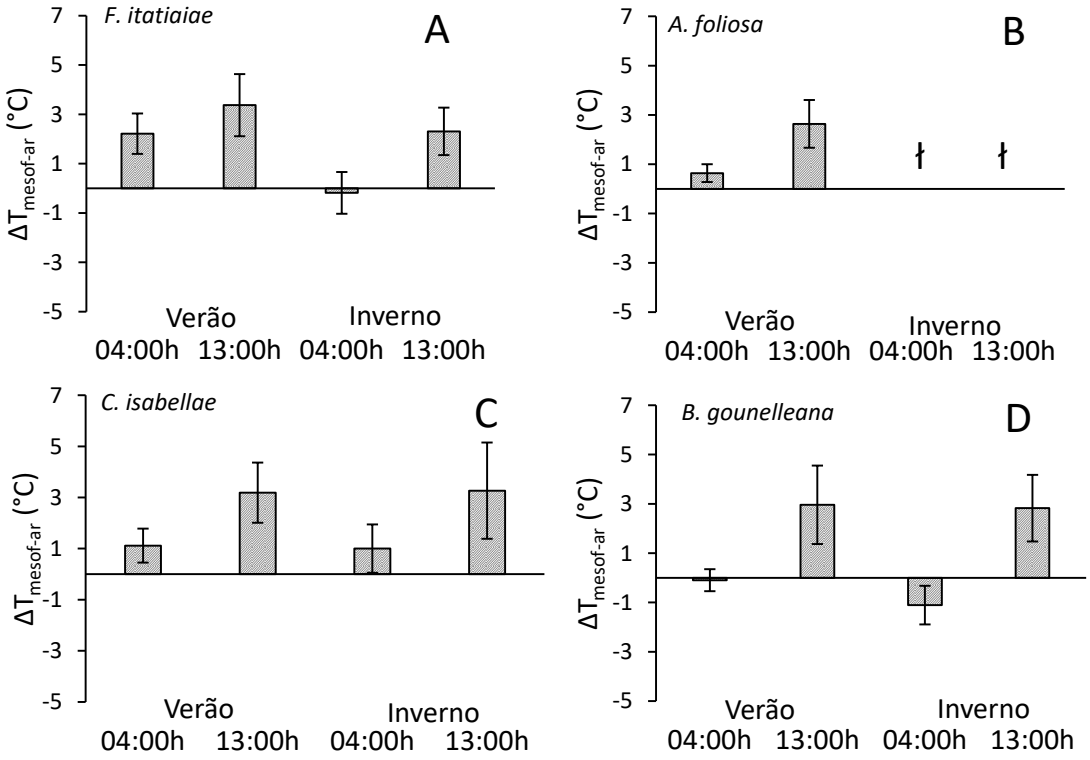
Gráfico 4 – Variação sazonal e diária no desacoplamento entre a temperatura do mesofilo e da rocha (ΔTmesof-rocha °C) em quatro espécies rupícolas do Alto Itatiaia (2400m de altitude).



Legenda: **A**. *Fernseea itatiaiae*. **B**. *Alstroemeria foliosa*. **C**. *Chionolaena isabellae*. **D**. *Barbacenia gounelleana*. Dados coletados no verão (jan-fev) e inverno (jun-jul) de 2017 e 2018 (n=6). O símbolo ł representa a ausência da parte aérea de *A. foliosa* durante os meses frios do inverno.

Fonte: O autor, 2018.

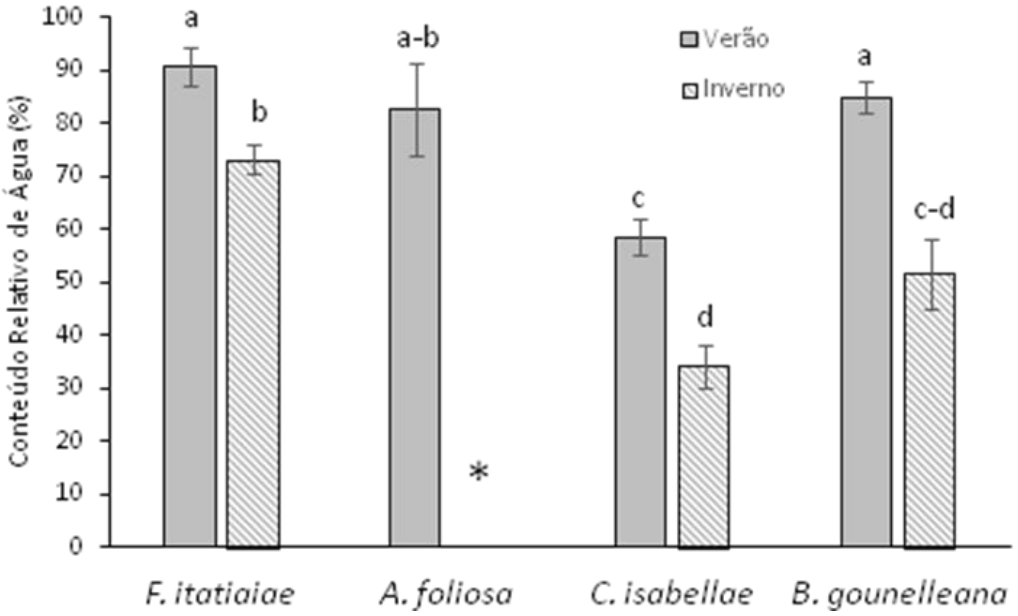
Gráfico 5 – Variação sazonal e diária no desacoplamento da temperatura entre o mesofilo e o ar (ΔTmesof-ar °C) em quatro espécies rupícolas do Alto Itatiaia (2400m de altitude).



Legenda: **A**. *Fernseea itatiaiae*. **B**. *Alstroemeria foliosa*. **C**. *Chionolaena isabellae*. **D**. *Barbacenia gounelleana*. Dados coletados no verão (jan-fev) e inverno (jun-jul) de 2017 e 2018 (n=6). O símbolo ł representa a ausência da parte aérea de *A. foliosa* durante os meses frios do inverno.
Fonte: O autor, 2018.

O conteúdo relativo de água em *F. itatiaiae, B. gounelleana* e *A. foliosa* durante o verão foi de 90%, 85% e 83%, respectivamente (Gráfico 6). Enquanto que *C. isabellae* apresentou na mesma estação (verão-chuvoso) 59% do potencial de saturação. No inverno, em todas as espécies, houve uma queda entre 25 - 30% desses valores. A espécie que apresentou maiores valores de hidratação foi *F. itatiaiae*, em contrapartida *C. isabellae* obteve nas duas estações, os menores valores. Os resultados mostram um forte efeito sazonal na desidratação ($f = 65$, $p<0,05$) e indicou semelhança entre as espécies *A. foliosa, F. itatiaiae* e *B. gounelleana*. A espécie que diferiu das demais foi *C. isabellae* ($f = 35$, $p<0,05$).

Gráfico 6 – Sazonalidade no conteúdo relativo de água em *Fernseea itatiaiae*, *Alstroemeria foliosa*, *Chionolaena isabellae* e *Barbacenia gounelleana* nos afloramentos rochosos do Alto Itatiaia. Dados coletados no inverno (jun – jul de 2017) e verão (jan – fev de 2017 e 2018) (n=6). O símbolo ł representa a ausência da parte aérea de *A. foliosa* durante os meses frios do inverno.



Fonte: O autor, 2018.

5.3.2. Eficiência fotoquímica do fotossistema II

A eficiência fotoquímica foi distinta entre as espécies, entretanto, as espécies não mostraram situações de estresse térmico associados a eficiência fotoquímica do fotossistema II (Tabela 1), de modo que não se pode observar diferenças entre as estações do ano ou os horários de medição do dia, exceto para *Alstroemeria foliosa*.

A espécie que apresentou maior razão Fv/Fm foi *C. isabellae* com 0,81 no inverno e 0,84 verão, não apresentando sinal de estresse no aparato fotossintético (Tabela 1). As

espécies pioneiras *F. itatiaiae* e *B. gounelleana* apresentaram semelhante rendimento, com valores no verão de 0,76 e 0,75 e no inverno 0,71 e 0,73, respectivamente. *Alstroemeria foliosa* durante o verão teve o menor valor dentre as espécies (0,67), apresentando maior sensibilidade ao estresse luminoso e térmico.

Tabela 1. Sazonalidade da eficiência fotoquímica do fotossintema II (Fv/Fm) em *Fernseea itatiaiae*, *Alstroemeria foliosa*, *Chionolaena isabellae* e *Barbacenia gounelleana* nos afloramentos rochosos do Alto Itatiaia, Serra da Mantiqueira, Brasil. Dados coletados no verão (jan-fev de 2017 e 2018) e no inverno (jun-jul de 2017 e 2018) nos horários de 04:00h e 13:00h (n=6). As letras destacam as diferenças estatísticas ($p<0,05$).

		Fv/Fm	
Espécie	Sazonalidade	4:00h	13:00h
Fernseea itatiaiae	Verão	0.75 (± 0.02) a	0.76 (± 0.02) a
	Inverno	0.75 (± 0.03) a	0.71 (± 0.04) a
Alstroemeria foliosa	Verão	0.76 (± 0.02) a	0.67 (± 0.03) b
Chionolaena isabellae	Verão	0.81 (± 0.02) c	0.84 (± 0.01) c
	Inverno	0.81 (± 0.02) c	0.80 (± 0.01) c
Barbacenia gounelleana	Verão	0.79 (± 0.02) c	0.75 (± 0.01) a
	Inverno	0.71 (± 0.03) a	0.73 (± 0.03) a

Fonte: O autor, 2018.

5.3.3. Pigmentos foliares

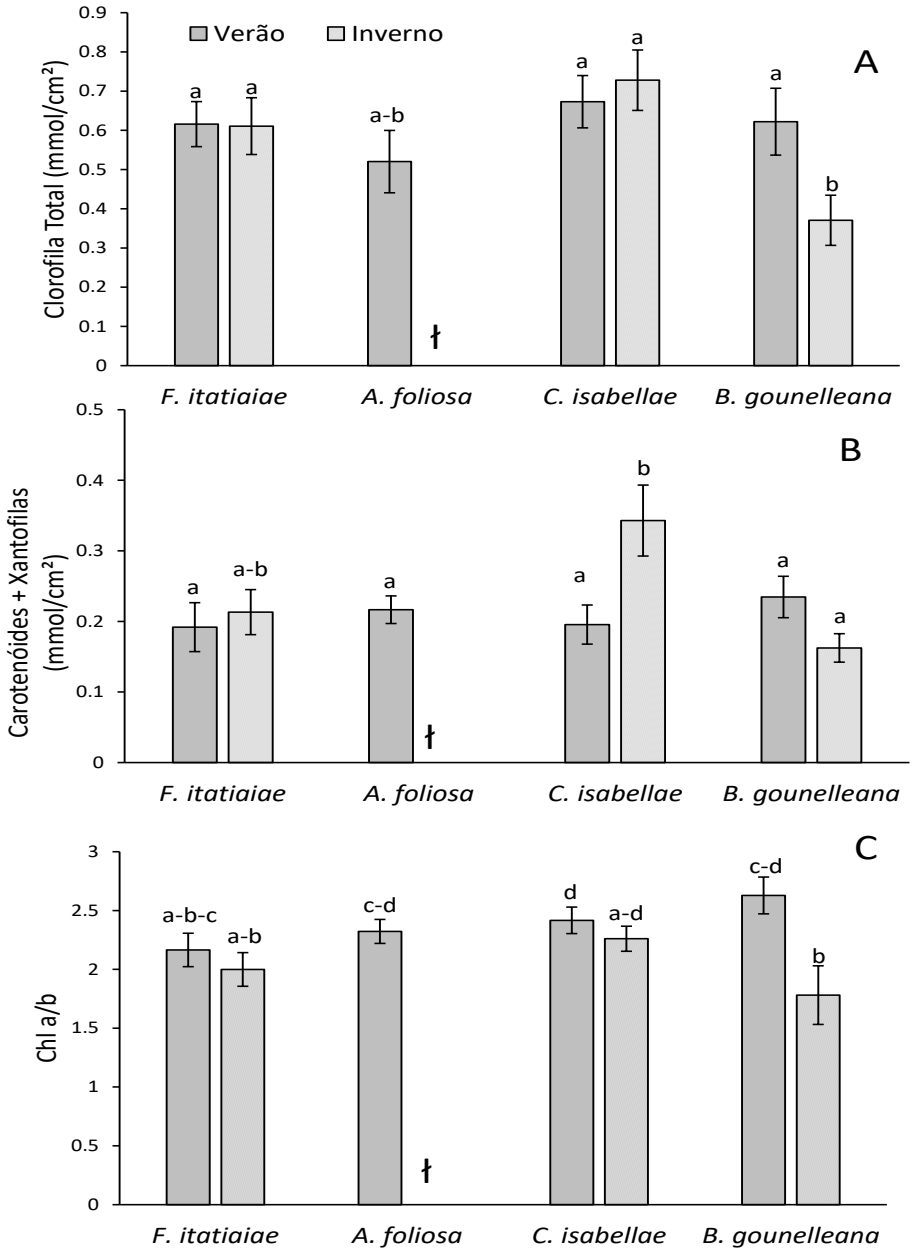
O conteúdo de clorofila total das folhas variou entre 0,11 a 0,96 mmol/cm³ no inverno e 0,25 a 0,91 mmol/cm³ no verão. *F. itatiaiae* e *C. isabellae* foram as espécies que mostraram menor variação sazonal na quantidade total de clorofila (Gráfico 7), mantendo o mesmo intervalo sem significativas alterações. *Barbacenia gounelleana* durante o inverno

apresentou valores entre 0,11 a 0,52 mmol/cm³, enquanto no verão variou entre 0,25 a 0,85 mmol/cm³ tal diferença apresentou significância estatística. Enquanto *A. isabellae* obteve valores entre 0,29 e 0,82 mmol/cm³ no verão. Análises de variância mostraram que o fator espécie (f = 6,98) é mais explicativo que a sazonalidade (f = 3,08) na variação no conteúdo de clorofila, e que *F. itatiaiae* se assemelha com *C. isabellae* e *A. foliosa*, esta última também não apresenta diferença da espécie *B. gounelleana*.

A concentração de carotenóides totais se mostrou conservativa nas espécies pioneiras, com *F. itatiaiae* representando valores no inverno de 0,26 a 0,47 mmol/cm³ e no verão 0,18 a 0,43 mmol/cm³ e *B. gounelleana* variando de 0,07 a 0,26 mmol/cm³ no inverno e 0,14 a 0,45 mmol/cm³ no verão. Enquanto que, *C. isabellae* demonstrou maior e significativa variação sazonal, na faixa de 0,27 a 0,50 mmol/cm³ no inverno e 0,12 a 0,46 mmol/cm³ no verão. *A. foliosa* demonstrou valores no verão de 0,17 a 0,43 mmol/cm³. Análises de variância revelam não haver diferença estatísticas entre as espécies ($p>0,05$).

As espécies se mostraram conservativas quanto sua razão clorofila a/b (Gráfico 7C) com exceção de *B. gounelleana*. Análises ANOVA indicam que a sazonalidade (f = 15,89) tem maior poder explicativo para a variação que as espécies (f = 2,85) e *B. gounelleana* como sendo a única espécie com diferença sazonal significativa.

Gráfico 7 – Sazonalidade na composição dos pigmentos foliares em *Fernseea itatiaiae*, *Alstroemeria foliosa*, *Chionolaena isabellae* e *Barbacenia gounelleana* nos afloramentos rochosos do Alto Itatiaia, Serra da Mantiqueira, Brasil. Dados coletados no verão (jan – fev) e no inverno (jun – jul) de 2017 e 2018 (n=6). O símbolo ł representa a ausência da parte aérea de *A. foliosa* durante os meses frios do inverno.



Legenda: **A.** Clorofila total **B.** Carotenóides + Xantofilas **C.** Razão clorofila a/b
Fonte: O autor, 2018.

5.4. **Discussão**

A vegetação dos *inselbergs* é exposta a uma variação diária de mais de 10 ^{o}C tanto da superfície rochosa quanto do ar, esta amplitude varia pouco com as estações, embora durante o inverno as temperaturas abaixo de zero sejam frequentes. Para tanto, é importante compreender de que modo a vegetação dos *inselbergs* do alto Itatiaia respondem à temperatura, e qual fator preponderante: a amplitude de variação térmica ou os valores em si. *Fernseea itatiaiae* obteve o registro mínimo de 0,5 ºC na temperatura da folha quando o substrato estava a -2 º C (geada), enquanto as outras espécies mantinham o tecido foliar acima de 2,5 ºC o que aponta em maior termorresistência ao congelamento na espécie. O caule foi a estrutura vegetativa que alcançou os valores mais baixos de temperatura em todas as espécies, chegando a -2º C em *B. gounelleana* e próximo a 0 ºC nas demais, mostrando que este órgão não possui uma proteção estrutural que confere isolamento térmico (POREMBSKI & BARTHLOTT, 2000) e, para tanto, os tecidos vasculares estão sujeitos ao congelamento. Os eventos de temperaturas negativas representam um grande desafio para a vida nos *inselbergs* do Parque Nacional do Itatiaia, com frequência de até 56 vezes por ano (CONDACK, 2006).

Os afloramentos rochosos possuem um regime térmico atípico para um ambiente tropical, fruto do aquecimento latente do substrato rochoso aliado com a ausência de solos e baixa retênção hídrica que acentuam os extremos de temperatura (RIBEIRO, 2002) e da entrada de frentes frias polares que encontram nas cadeias montanhosas da Serra da Mantiqueira (que abrange o Itatiaia) uma grande barreira geográfica (CONDACK, 2006). O grau de acoplamento térmico das espécies com o ambiente encontrados neste estudo é muito próximo, quando comparados ao acoplamento encontrado em estudos feitos com espécies em montanhas de ambientes temperados (LARCHER & BAHUER, 1981; LARCHER, 2000; LARCHER, KAINMÜLLER & WAGNER, 2010), indicando que as temperaturas extremas são uma forte barreira ambiental à colonização da rocha nua pela flora. A amplitude têrmica dos *inselbergs* atua como forte filtro ambiental para ocorrência de espécies de filogenia tropical nos topos de montanha (JANZEN, 1967) frente à uma amplitude térmica de 20 ºC do substrato rochoso, determinando uma riqueza restrita da flora e corroborando o papel facilitador de algumas espécies encontrado por Ribeiro (2002).

Os desafios da colonização da rocha e a baixa similaridade florística com os campos de altitude, representam a fragilidade das ilhas de vegetação dos *inselbergs* do Parque

Nacional do Itaiaia. Adicionalmente, traz à luz a importância das interações positivas nas ilhas de vegetação (POREMBSKI & BARTHLOTT, 2000; RIBEIRO, 2002), uma vez que a presença das espécies pioneiras facilitadoras fomenta o tamponamento das flutuações ambientais e o estabelecimento de maior diversidade nas ilhas. Espécies estudadas apresentaram mesofilo 4 ^{o}C acima da temperatura do ar (16 ^{o}C) e pouco sinal de estresse no aparato fotossintético, a observação sugere que as plantas possuem temperatura ótima da fotossíntese superior à temperatura do ar.

Ao se estudar os mecanismos das respostas ao estresse, é importante reconhecer que a reação inicial do fator de estresse toma lugar no protoplasma celular (LARCHER, 1994), logo o estresse intrínseco causa alterações na fluidez da membrana, mudanças na estrutura de proteínas ou altera as dinâmicas bioquímicas da fotossíntese. O protoplasma de espécies vegetais pode apresentar ou meios de resistir a certa extensão o estresse até que ocorra uma significativa reação a nível celular, sendo este um processo de tolerância; ou mecanismos que se desenvolveram para evitar que mudanças causadas pelo fator de estresse cheguem até o protoplasma com intensidade total como em superfícies mais externas da planta estão expostas, definindo este um processo de evitação pois o agente estressante não foi capaz de provocar alterações na fisiologia do indivíduo (POREMBSKI & BARTHLOTT, 2000).

O estudo das relações causais entre os fatores de estresse e suas resposta é dificultado em estudos *in situ* porque embora mais realistas, não isolam os fatores ambientais para serem investigados de maneira separada e independente, pelo contrário, eles se conectam em cadeia. Por exemplo, a alta irradiância luminosa, não só atua no aparato fotossintético, como também promove o aquecimento do tecido foliar. A abertura estomática concomitante ao aquecimento do tecido foliar intensifica a perda de água por transpiração. De forma que é válido analisar os *inselbergs* como ambiente onde estresses térmico, hídrico e luminoso (POREMBSKI & BARTHLOTT, 2000; BURKE, 2003) interagem sinergicamente de acordo com ciclos diários e sazonais. A resultante é uma taxa de evapotranspiração superior nos afloramentos em relação aos campos de altitude, que ocorrem lado a lado. Ao comparar os dados encontrados nestes estudo (Gráfico 6) com os conteúdos relativos de água coletados por Camerik (1981), é possível eperceber que a vegetação dos campos de altitude está em um regime hídrico mais estável do que as espécies dos afloramentos rochosos. Isso se explica pela diferença na retenção hídrica do substrato de cada ambiente e o grau de exposição que intensifica taxas de transpiração e aumento de temperatura através da convecção. Deste modo, o topo das montanhas é dessecante (observe o período de restrição hídrica na Apêndice A figura B), e

está ficando mais (veja comparação do climodiagrama apresentado por Safford, 1999a e b, e o apresentado na seção área de estudo desta dissertação).

Apesar de combinados - o estresse hídrico e o estresse térmico - formarem fortes filtros ambientais para colonização da rocha, *F. itatiaiae, C. isabellae* e *B. gounelleana* não apresentaram sinais de queda na eficiência fotoquímica do fotossistema, indicando resistência às flutuações ambientais. Apenas *A. foliosa* apresentou sinais de depressão fotossíntética ao meio dia, sugerindo maior sensibilidade à exposição a energia luminosa. *A. foliosa* é uma perene geófita (de acordo com a classificação de Raunkiær, 1934), que durante a estação seca não apresenta órgão aéreos e as gemas permanecem em um bulbo subterrâneo. É possível que mudanças graduais no balanço de luz e precipitação e, consequentemente, de temperatura do ambiente coordenem estímulos da espécie para abortar a parte aérea e diminuir seu metabolismo até a volta da estação de chuvas, anualmente produzindo novos caules, folhas e flores (AKER, 1990). A estratégia apresentada por *A. foliosa* se encaixa na categoria de escape, tendo em vista que os efeitos da estação desfavorável não atingem a espécie com seu total potencial. Em contra partida, a espécie está restrita à uma estação para desenvolver-se e reproduzir, ficando sujeita às flutuações anuais, que se intensificarão com as mudanças climáticas previstas.

Fernseea itatiaia é uma planta CAM, logo é esperado uma maior eficiência no uso da água aliada à capacidade de habitar ambientes de altas variações térmicas (YAMORI et al., 2014). Em adição, foi a espécie cujo mesofilo atingiu as maiores temperaturas, indo de encontro com o estresse térmico induzido pelo fechamento estomático diurno. O fato dessa espécie manter alta hidratação na estação seca (<70%) e atingir altas temperaturas, aponta para existência de um mecanismo de resistência do protoplasma ao estresse térmico (POREMBSKI & BARTHLOTT, 2000). O mesofilo da espécie alcançava valores de 1ºC durante o inverno e 28ºC durante o verão, fato que sugere capacidade de regulação da composição de membrana para manter sua fluidez e estabilidade (RAISON et al., 1980; HAZEL, 1988; QUINN, 1988; NUE & XIU, 2018).

Chionolaena isabellae apresentou valores reduzidos de conteúdo relativo de água em ambas estações, o que sugere um comportamento de abertura estomática pouco regulado e consequentemente, um mesofilo com temperaturas mais constantes. Porém, apesar de ser fisiologicamente eficaz o aumento da taxa de transpiração para evitar superaquecimento (LANGE, 1959), nos *inselbergs* isto implica na necessidade de contornar a pouca disponibilidade hídrica do micro-hábitat (POREMBSKI & BARTHLOTT, 2000). A alta

densidade de tricomas em ambas faces da folha pode estar envolvida na captação de água da atmosfera durante eventos de neblina, como já foi evidenciado em uma espécie dos campos de altitude de *Croton* (Euphorbiaceae) da Serra da Mantiqueira (VITARELLI et al., 2016). Mais além, o mecanismo de regulação da abertura estomática poderia estar relacionada ao movimento de água entre a folha e a atmosfera na forma de vapor, como proposta por Peak & Mott (2011).

Barbacenia gounelleana é reconhecida como uma planta de 'ressurreição', ou seja, apresenta duas formas durante o ano, na estação úmida encontra-se com aspecto verde e durante a estação seca ocorre com folhas escurecidas e aspecto mais seco (Apêndice C figuras C e D). Esta observação se refere à capacidade de sobreviver a ciclos sazonais de dessecação da célula vegetal e posterior hidratação, durante o estado de desidratação as taxas metabólicas diminuem até o ponto de não poderem ser medidas e ao entrar em contato com água, há a recuperação gradual dos processos fisiológicos (POREMBSKI & BARTHLOTT, 2000). As plantas tolerantes à dessecação celular são poiquilohídricas, uma vez que passam meses com taxas de hídratação foliar inferiores a 2%, em contrapartida espécies homeohídricas conseguem manter níveis de hidratação do protoplasma junto com as funções fisiológicas constantes no tempo. A desidratação do protoplasma leva à degradação de biomembranas e proteínas estruturais (VIEWEG & ZIEGLER, 1969; ZIEGLER & VIEWEG, 1970; BEWLEY & KROCHKO, 1982; HARTUNG et al., 1998) e há espécies poiquilohídricas que remobilizam a molécula da clorofila e outros pigmentos fotossintéticos. Ainda assim, a síntese de substâncias de proteção como proteínas, lípideos de membrana e solutos fazem com que danos no protoplasma durante o período de seca se limitem a uma faixa que é toleravel pela célula vegetal (BEWLEY & KROCHKO, 1982; INGRAM & BARTELS, 1996; MULLET & WHITSITT, 1996; MULLER et al., 1997; HARTUNG et al., 1998).

A espécie *B. gounelleana* foi categorizada como poiclorofítica (SCARANO et al. 2001; MEDINA et al., 2006) devido a mudanças na coloração das folhas e, de fato, nossos resultados confirmaram que é capaz de realizar ajustes na conformação dos pigmentos do tecido fotossintético entre estações como resposta ao inverno, no qual o número de moléculas de clorofila *a* foi reduzido, evitando sua degradaçao pela exposição à radiação e à seca.

Atrelado á mudança sazonal na constituição foliar, Porembski & Barthlott (2000; 2007; 2012) identificaram na família Velloziaceae a presença de velâme, um revestimento de células mortas do tecido radicular que prolonga o contato da raiz com água e retarda a dessecação, uma vez que a água deve passar pela hipoderme radicular e por todas as camadas

do velame até evaporar por completo (CATTAI, 2007). Análises da anatomia em Velloziaceae elaboradas por Cattai (2007) estabeleceram que a estrutura no córtex externo radicular na família não constitui um velâme, pois é formado por células derivadas do meristema fundamental e não da epiderme. Adicionalmente, tal revestimento atua no aumento da eficiência do aporte hídrico pela raiz com o retorno da estação chuvosa. Desta forma, o revestimento agiliza a reposta da planta para iniciar mecanismos de reparo do protoplasma durante o periodo de dessecação e normalização das taxas metabólicas, assim como remobilização da molécula da clorofila. A espécie da família Velloziaceae apresenta traços evolutivos refinados para resistir aos efeitos dos estresses luminoso e hídrico agravados na estação seca (POREMBSKI & BARTHLOTT, 2000; MEDINA et al., 2006) por sua origem filogenética na fitofisionomia do Cerrado brasileiro. Neste sentido, o centro de diversificação filogenética da espécie só não compartilha as baixas temperaturas, mas sim ocorre em altas temperaturas. Igualmente impondo a necessidade de proteção térmica.

As espécies estudadas apresentaram estratégias de resposta à temperatura bem delineadas e pouco similares, distintas mesmo entre as que estão contidas no mesmo grupo sucessional. Este fato indica que as categorias de iniciais (pioneiras) ou tardias (secundárias) não foram suficientes para representar afinidades ecofisiológicas entre as espécies da flora de *inselbergs* em resposta a temperatura, indo de acordo com o observado por Slot & Winter (2017a), enquanto Vårhammar et al. (2015) encontrou influência das categorias sucessionais em florestas tropicais. Independente do estágio sucessional inicial ou tardio, as espécies estudadas mostraram estratégias eficientes para resistir ou evitar as flutuações ambientais de disponibilidade hídrica, luz e temperatura. Ainda assim, as espécies pioneiras *F. itatiaiae* e *B. gounelleana* apresentaram traços em sua fisiologia que são cruciais para colonização rochosa, como a hidroestabilidade (<70% de conteúdo relativo de água na estação seca) e termoresistência da espécie CAM e a tolerância à dessecação da célula vegetal (espécie poiquilohídrica) aliada à remobilização da molécula da clorofila em Velloziaceae.

A resistência à dessecação celular pode representar um modo eficaz de adaptação ecofisiológica à seca, contudo apresenta uma forte desvantagem pois limita o crescimento em biomassa ao período em que a planta está com níveis de hidratação altos na estação úmida, ou seja, poucas semanas durante o ano (POREMBSKI & BARTHLOTT, 2000). Consequentemente, a capacidade de competir de espécies poiquilohídricas é comprometida, e se restringem a ambientes cujas condições ambientais são extremas a ponto de excluir outras plantas como competidoras.

As quatro espécies estudadas apresentam estratégias para resistir e evitar estresse, e a divisão de acordo com os estados sucessionais proposta no estudo (pioneiras e secundárias) não obedece padrões claros nas estratégias ecofisiológicas das espécies dos *inselbergs*. Para compreensão do efeito de fatores ambientais em ecofisiologia vegetal muitas vezes se faz necessário atentar aos extremos dos valores alcançados, pois estes representam um filtro ambiental para espécies ocorrerem no ambiente. Os valores da média podem mascarar a ocorrência de eventos extremos, ainda assim são tais eventos (ex. geada) que estabelecem o verdadeiro desafio para a vida vegetal e o ponto crítico necessário para sobrevivência. Apesar dos efeitos da sazonalidade nos *inselbergs* apenas *F. itatiaiae* alcançou temperaturas congelantes no mesofilo durante geada. A observação sugere que existam mecanismos para evitar o congelamento do mesofilo das outras espécies. *Chionolaena isabellae* apresentou valores muito baixos de hidratação (35% de conteúdo relativo de água) coincidentes com eventos de geada, e como já observado por Larcher (2000) espécies vegetais podem resistir á formação de cristais de gelo intracelular pela perda de água. Foi observado por Fernández-Marín et al. (2018) a primeira evidência de tolerância ao congelamento de uma planta de "ressurreição" através de mobilidade molecular e sintese de zeanxantinas. Ao comparar com a planta de "ressurreição" estudada, *B. gounelleana* não teve diferença significativa na sazonalidade dos valores de carotenóides e xantofilas porém Fernández-Marín et al. (2018) observou síntese de xantofilas numa escala de horas em um gradiente de -7 ºC a 4 ºC. O debate fomenta que o metabolismo de açúcares não estruturais, lipídeos e proteínas (*HSP*) possam estar envolvidos no desacoplamento térmico nos eventos de geada para espécies estudadas. Para *F. itatiaea*, resistir ao congelamento à noite e manter a conversão fotoquímica do fotossistema II eficiente durante o dia demanda que as membranas celulares mantenham sua viscosidade apesar da flutuação térmica.. Logo, pode-se afirmar que apenas para *F. itatiaiae* a amplitude térmica sazonal é mais decisiva para sua fisiologia, enquanto para as outras espécies, a variação diária é mais determinante, pois estas não chegam aos valores negativos que advém dos efeitos da estação do inverno.

6 AVALIAÇÃO DA SENSIBILIDADE TÉRMICA DA FLORA DOS INSELBERGS DO ALTO ITATIAIA: OPEN TOP CHAMBERS E DETERMINAÇÃO DAS TEMPERATURAS LIMITES

6.1. Introdução

Os ambientes estão passando por mudanças climáticas, mesmo que esta ocorra em diferentes intensidades ou direções. Como estas mudanças climáticas estão ocorrendo em uma velocidade acima dos registros paleontológicos, isto é, as mudanças de temperatura atuais, em sua magnitude, estão ocorrendo em espaço de tempo menor do que o já registrado anteriormente (JARAMILLO et al., 2011; DIFFENBAUGH & SCHERER, 2011), é provável que as espécies não sejam capazes de responder à curto prazo de modo a manter o seu metabolismo positivo. Como escape, é possível que as espécies vegetais crescendo nos trópicos migrem populacionalmente em latitude (longas distâncias) ou migrem em altitude (curtas distâncias) de modo a compensar o aquecimento, e manter a faixa ambiental de ocorrência estável (COLWELL et al., 2008). Deste modo a migração ao longo do gradiente altitudinal têm sido estudado como uma possibilidade de ajuste das populações vegetais ao aquecimento climático nos trópicos (PARMESAN, 2006; LENOIR et al., 2008). Contudo, para as populações da flora do topo das montanhas esta possibilidade não se apresenta.

O topo das montanhas têm sido considerado refúgios ecológico-evolutivos da flora (DULLINGER et al., 2012), e desta forma, agregam uma diversidade de espécies com filogeografias distintas, uma vez que somam as invasões da flora de proximidade com invasões da flora de mesma similaridade ambiental (MARTINELLI, 2007). O alto do Itatiaia na Serra da Matiqueira representa um deste ambientes com climas montanos que agrega uma flora diversa por sua origem (SAFFORD, 1999a & 1999b). Nesta região, é possível observar espécies de origem filogeográfica na Mata Atlântica (RIBEIRO et al. 2007), de origem Andina (RIBEIRO et al., 2007, VASCONCELOS, 2011; ALVES et al., 2016) e espécies que apresentam adaptações à aridez (BRADE, 1956; ALVES et al., 2016). Isto torna a flora diversa em espécies com estratégias ecofisiológicas.

Mais além, o alto das montanhas da Mantiqueiras apresenta duas feições biogeográficas, os campos de altitude propriamente ditos e os afloramentos rochosos que estão inseridos nesta fisionomia. Os afloramentos rochosos frequentemente apresentam o papel ecológico de refúgio para incêndios, e acabam por também guardar remanescentes

populacionais (POREMBSKI & BARTHLOTT, 2012). Poucas são as espécies compartilhadas entre os locais com solos terrosos e solos de rocha consolidada, uma vez que estes apresentam condições micro-climática específicas (POREMBSKI, 2007).

A escalada do gradiente altitudinal, embora permita um decréscimo das temperaturas médias às quais as plantas estão sujeitas, induz ao aumento da sazonalidade térmica. O ambiente de topo de montanha é fortemente sazonal em temperatura, característica não compartilhada com outros ambientes tropicais tal como a Mata Atlântica, onde a sazonalidade é mais marcada pela pluviosidade. Por sua vez, os substratos rochosos, por suas trocas térmicas intrínsecas, impõe à flora, além da variação térmica sazonal montana, uma considerável variação térmica no âmbito diário (veja seção Área de Estudos desta dissertação; Gates, 1980). Deste modo, é possível imaginar que a flora que habita os inselbergs no topo de montanhas tropicais contenham informações sobre como esta varia seus processos fisiológicos com a temperatura. Em cenários de mudanças climáticas, a flora dos alfloramentos rochosos alto montanos podem estar sujeitos à temperaturas máximas mais quentes no inverno, um encurtamento do número de dias com termperaturas abaixo de zero no inverno, e ainda, menor frequência de neblinas acompanhada de uma maior incidência de radiância luminosa total.

Neste estudo, buscamos simular o efeito do aquecimento global na escala do indivíduo e determinar as temperaturas limites para a fotossíntese nos tecidos do mesofilo. Para isto, monitoramos o estresse de excesso de energia na fotoquímica foliar através da fluorescência da clorofila durante um experimento de simulação do aquecimento previsto para o ambiente (cerca de 2°C para os próximos 5 anos, IPCC, 2013, *World Clim*, ASSIS & DE MATTOS, 2016) ao longo de 1 ano e meio (câmaras de topo aberto) e avaliamos o comportamento fotossintético das espécies ao longo de uma escala de temperatura (10° a 45° C). Deste modo, avaliamos a resistência do metabolismo fotossintético das espécies rupícolas do alto Itatiaia às mudanças climáticas e abordamos as diferenças interespecíficas, relacionadas a posição sucessional e as origens filogeográficas.

6.2 **Métodos**

6.2.1 Filogeografia e aspectos ecofisiológicos das espécies estudadas

Quatro espécies foram selecionadas: *Alstroemeria foliosa*, *Barbacenia gounelleana*, *Chionolaena isabellae* e *Fernsea itaiaiae*. *Barbacenia gounelleana* (Velloziaceae) e *F. itatiaiae* (Bromeliaceae) possuem origem filogenética relacionada à ambientes tropicais, Cerrado e Mata Atlântica, respectivamente. Ambas apresentam adaptações à restrição hídrica, e *F. itatiaiae* possue metabolismo CAM. As duas apresentam distribuição endêmica ao Itatiaia. *Chionolaena isabellae* (Asteraceae) possui distribuição mais ampla, ocorrendo nos afloramentos rochosos montanos do Brasil. A família Asteraceae é bastante diversa na flora Andino-Patagônica. *Alstroemeria foliosa* (Alstroemeriaceae) é uma espécie sazonal, com emergência da parte aérea apenas nos meses quentes, restrita à ambientes montanos. Compartilhas espécies congêneres com a flora Andino patagônica. *Chionolaena isabellae* e *B. gounelleana* são descritas como iniciadoras de sucessão com a habilidade de colonizar a rocha nua (RIBEIRO, 2002).

6.2.2 Câmara de topo aberto

A utilização das câmaras de topo aberto tiveram o objetivo de simular um aquecimento atmosférico nas plantas rupícolas do Itatiaia, através apenas da retenção do calor convectivo. Para este propósito desenhamos uma câmara com a forma de pirâmide trapezóide. O material utilizado foi polimetil-metacrilato (acrílico) transparente, o que permitiu uma pequena absorbância luminosa (aproximadamente 1%), isto é, 99% de transmitância da energia luminosa incidente. Em razão do pequeno porte das plantas estudadas (altura máxima 20cm), a câmara foi construída com as medidas 15 x 15 x 10cm (Figura 3A, 3B e 3C). As câmaras projetadas possuem, em cada um dos quatro lados, um suporte para auxiliar na fixação sobre a rocha com resina epóxi.

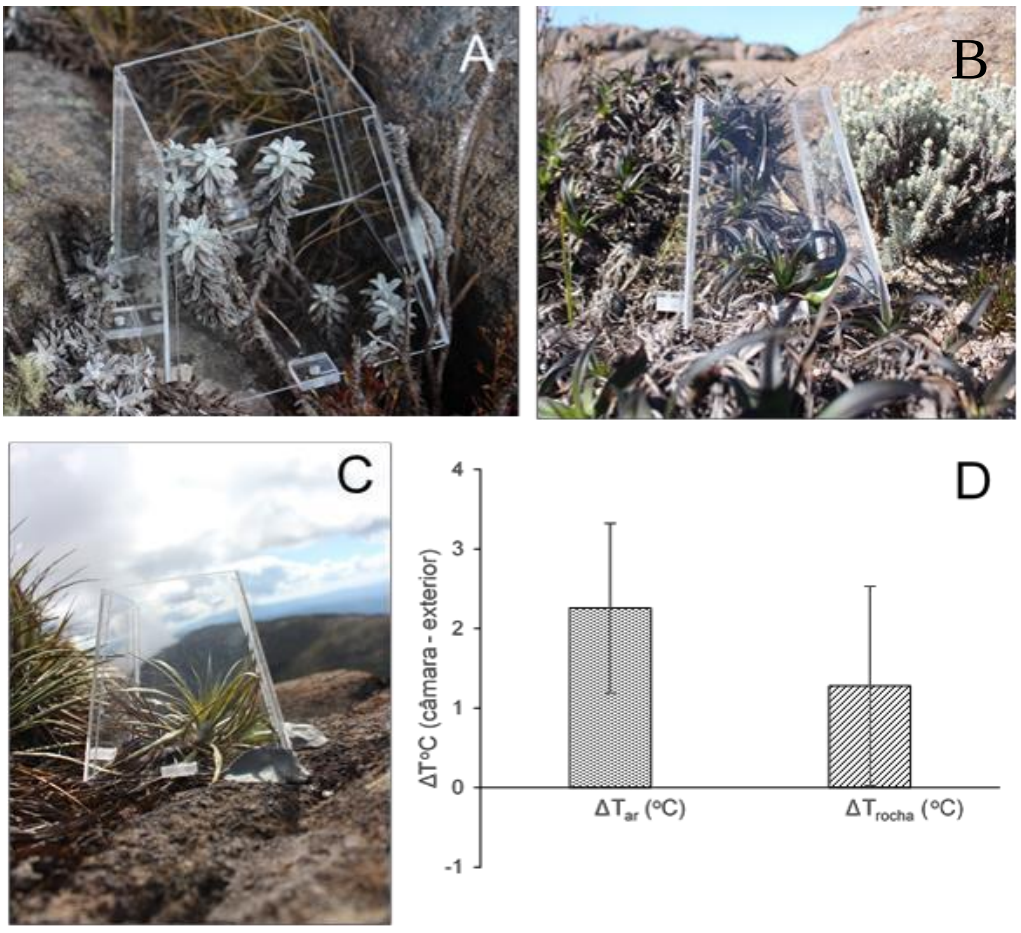
As especificações técnicas de tamanho e desenho da câmaras de “topo aberto” influenciam fortemente nas variações microclimáticas dentro da câmara. A redução do vento dentro das câmaras de “topo aberto” é um dos principais causadores do aumento da temperatura das folhas, pois limita a troca de calor por convecção com o ar (DE BOECK et al., 2012). Por influenciar em diferentes parâmetros abióticos, enfatiza-se a importância de

identificar efeitos microclimáticos específicos das câmaras de "topo aberto" em ambas variáveis ambientais e suas influências em processos biológicos (BOKHORST et al., 2013).

A câmara de "topo aberto" elaborada para o presente estudo foi projetada para aumentar em média 2-4ºC a temperatura do ar (Figura 3D). Depois de instaladas foram medidas temperatura do ar, rocha, substrato do interior da câmara e interna do mesofilo, concomitante a valores da eficiência fotoquímica do fotossistema II como medida de estresse. Indíviduos fora da câmara, até o máximo de 1 m de distância, foram medidas como controle.

A instalação das câmaras foi iniciada em junho/2017 (início do inverno) para as espécies *C. isabellae, B. gounelleana* e *Fernsea itatiaie*, que possuem parte aérea persistente no inverno. As câmaras de *A. foliosa* foram instaladas em dezembro/2017, logo após a reemergência dos brotos dos bulbos de *A. foliosa*. Ao final, seis indivíduos foram monitorados para cada espécie. Foram medidos o rendimento quântico do fotossistema II às 04:00h e às 13:00h no inverno e verão ao longo de 2017 e 2018.

Figura 3 – Experimento de simulação do aquecimento ambiental com câmaras de "topo aberto" instaladas *in situ* sobre espécies rupícolas na montanha do Couto no Alto Itatiaia.



Legenda: **A**. *Chionolaena isabellae* (Asteraceae); **B**. *Barbacenia gounelleana* (Velloziaceae); **C**. *Fernseea itatiaiae* (Bromeliaceae); **D**. Diferença da temperatura encontrada na superfície da rocha e no ar no ambiente interno à câmara de "topo aberto" e no ambiente externo, evidenciando o aquecimento simulado pela câmara.
Fonte: O autor, 2018.

6.2.3 Experimento para determinação das temperaturas-limite

O aparato fotossintético pode apresentar resistência/resiliência ao estresse térmico, entretanto, em um dado momento de continuidade ou magnitude do estresse, os danos se tornam irreversíveis, como desmantelamento do aparato bioquímico. Para avaliar a queda da eficiência fotossintética no ganho de luz e carbono ao longo do aquecimento e por fim, determinar as temperaturas limites para cada espécies realizamos dois ensaios experimentais de aquecimento através do ar. Para isto, três indivíduos de cada espécie estudada - *B. gounelleana, F. itatiaie* e *C. isabellae* - foram coletados inteiramente junto com o proto-substrato no início de julho/2018 (início da estação invernal), em seguida acondicionados em recipientes úmidos e mantidos à 20°, para enfim serem submetidos à medição foliar em câmara controlada.

No primeiro experimento, uma folha completamente expandida e livre de injúrias foi selecionada e acoplada ao equipamentos de análise de gases por infra-vermelho (IRGA, Walz, Alemanha) e de fluorescência da clorofila (Mini-PAM, Walz, Alemanha), simultaneamente. Os equipamentos foram regulados de modo a simular concentração de 380 ppm de CO_2 e 8000 ppm de H_2O no ar da câmara em um fluxo de 750 µmol.s^{-1} na análise dos gases e 2 para ganho de luz (light gain) e 4 para intensidade de sinal (measure intensity) na fluorometria. A folha foi então submetida a ciclos de medição com 20 minutos de escuro seguidos de 5 minutos de exposição luminosa à 700 mmol PPFD. Ao final da aclimatação ao escuro foram mensurados o Fv/Fm e a taxa de respiração (este último, exceto para *F. itatiaie* em razão da possibilidade de esta realizar o acúmulo de CO_2 em ácidos carbônicos). Ao final do período de exposição luminosa foras tomados os parâmetros de taxa de assimilação fotossintética líquida, a condutância estomática e Fo. Os parâmetros fotossintéticos decorrentes foram calculados segundo Farqhuar, Von Caemmerer & Berry (1980) e ajustado para a área foliar amostrada. Os ciclos de medição foram feitos a cada 5 °C em uma escala de 10° a 45°. As

temperaturas de referência para o aquecimento foram tomadas a partir da folha através de um termopar. As mensurações de *B. gounelleana* e *C. isabellae* foram feitas preferencialmente pela manhã em três dias consecutivos. As medições de *F. itatiaiae* foram realizadas sempre no início da noite (a partir das 19h) nos mesmos dias.

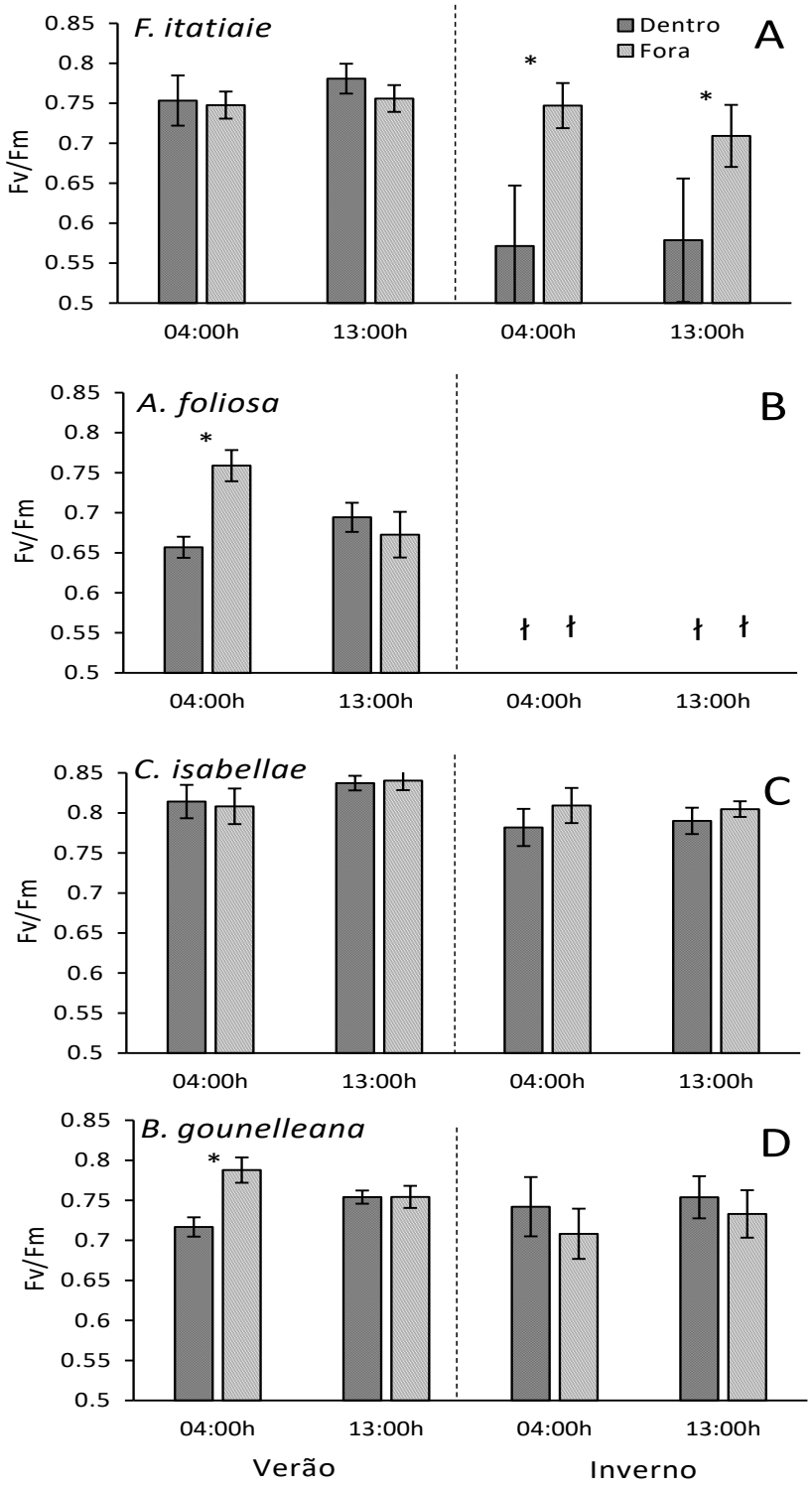
Para o segundo experimento, outra folha completamente expandida e livre de injúrias foi tomada e acoplada do mesmo modo aos equipamentos detalhados anteriormente, porém o analisador de gases foi usado somente para criar uma atmosfera aquecida, durante as medições com o fluorômetro. Neste ciclo de medições foram registrados o Fo e em seguida através da emissão de um pulso de luz, o Fv/Fm. Estes foram registrados a cada grau de aumento na escala entre 10° e 47° C. O intervalo entre as medições variou entre 1 – 3 minutos. Todas as medidas foram tomadas no escuro. As temperaturas de referências foram tomadas a partir do ar. O objetivo foi determinar a temperatura limite para a integridade estrutural do fotossistema II (PSII).

6.3 **Resultados**

6.3.1. Câmaras de topo aberto

As espécies estudadas não mostraram um padrão uniforme de resposta ao aquecimento através da câmara de topo aberto. *Fernseea itatiaiae* mostrou queda em seu rendimento fotoquímico do fotossistema II apenas no inverno dentro da câmara, enquanto no verão não houve diferenças. *Alstroemeria foliosa* obteve menor rendimento dentro das câmaras durante a madrugada, e enquanto no período mais quente do dia a queda no Fv/Fm foi independente da presença da câmara, caracterizando que esta espécie apresenta período de estresse térmico que é revertido à noite. *Chionolaena isabellae* não apresentou qualquer alteração no seu rendimento fotoquímico com o aquecimento promovido pelas câmaras à qualquer momento. Finalmente, *B. gounelleana* apresentou um efeito positivo do aquecimento das câmaras no inverno e negativo no verão, sempre nas medições antes do início da exposição luminosa do dia. Exceto para *F. itatiaiae* no inverno, a intensa exposição luminosa às 13h sobrepõe ao efeito do aquecimento atmosférico promovido pela câmara e, para tanto, os valores de Fv/Fm em indivíduos dentro e fora, tornam equiparáveis neste horário (Gráfico 8).

Gráfico 8 – Comparação da Eficiência Fotoquímica do Fotossistema II em espécies dentro e fora de Câmaras de "Topo Aberto" instaladas sobre a rocha no Alto Itatiaia.



Legenda: **A.** *Fernseea itatiaiae* **B.** *Alstroemeria foliosa* **C**. *Chionolaena isabellae* **D**. *Barbacenia gounelleana*. Dados coletados no inverno (Jul de 2017) e no verão (Jan e Fev de 2017 e 2018) (n=6). O símbolo ł representa a ausência da parte aérea em *A.*

foliosa durante os meses frios do inverno. O asterisco denota diferenças estatíticas.
Fonte: O autor, 2018.

6.3.2. Experimento de determinação das temperaturas-limite

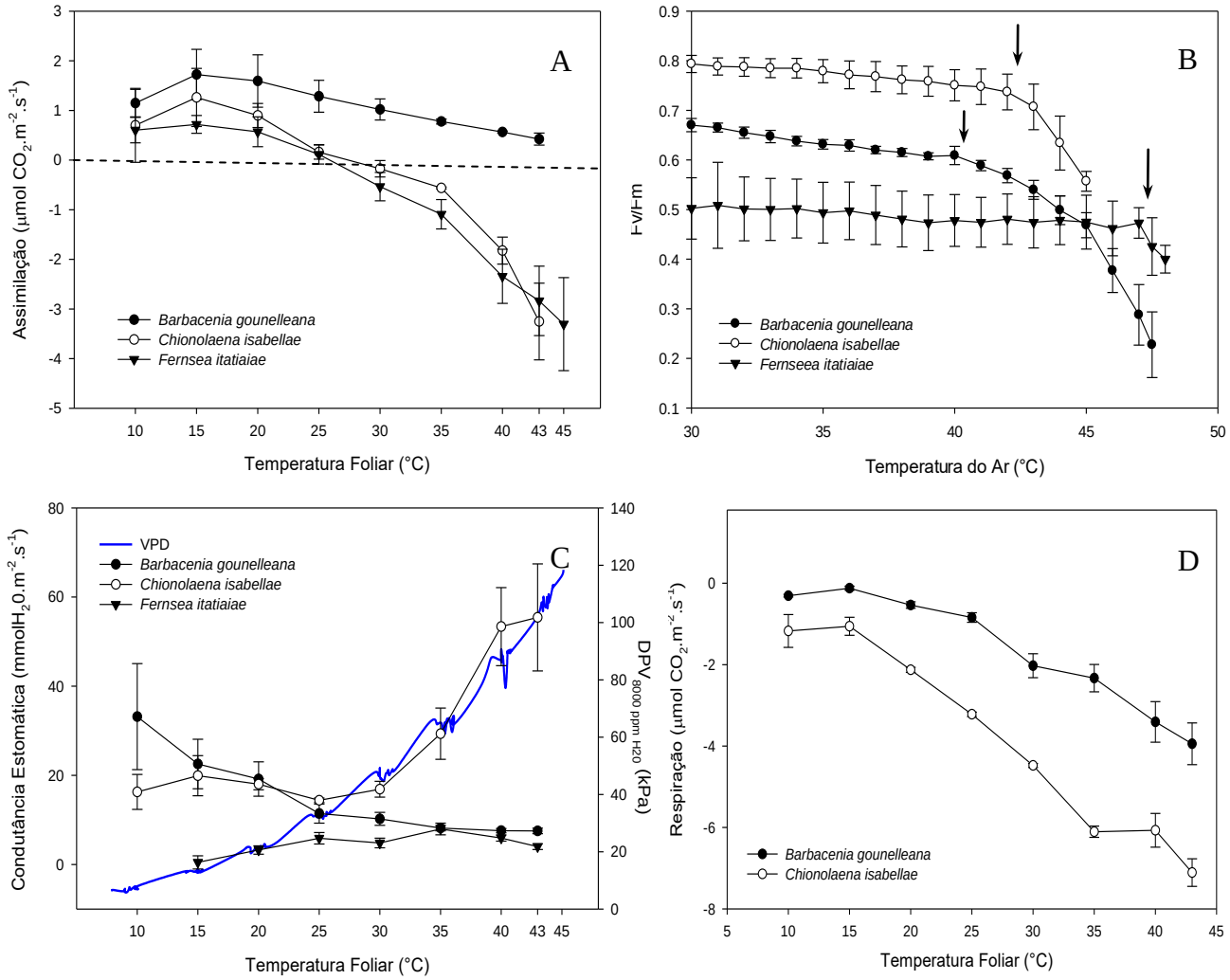
As taxas fotossintéticas das espécies rupícolas do Itatiaia analisadas foram sensíveis ao aquecimento com a atmosfera simulada, mostrando uma queda (detração), entretanto, *B. gounelleana* permaneceu sempre com valores acima da compensação luminosa (Figua 12A). *F. itatiaie* e *C. isabellae* passaram a respirar mais que acumular carbono a partir de 26° e 27° C, respectivamente. As temperaturas limites do aparato de ganho de luz também foram diferentes entre as espécies (Gráfico 9B), para o qual *B. gounelleana* mostrou uma queda do Fv/Fm a partir 40° C, *C. isabellae* a partir de 42° C, enquanto *F. itatiaiae* resistiu até 47° C. A queda em Fo para *B. gounelleana* apresentou alguns sinais de detração a partir de 31° C, entretanto a temperatura crítica (T_{crit}) ocorreu aos 41°C. O aparato fotoquímico de *C. isabellae* e *F. itatitiaiae* foram mais termotolerantes, apresentando alguma detração a partir de 36° C, e as temperaturas críticas em 44° C e 46° C, respectivmente.

A condutância estomática de *C. isabellae* se manteve estável entre 10° e 25° C, porém após esta temperatura, os valores de condutância acompanharam livremente o déficit de pressão de vapor, sugerindo que as folhas não são capazes de restrigir a perda d´água em temperaturas mais altas. *F. itatiaiae* manteve a condutância estomática nos menores valores encontrados e estáveis ao longo do aquecimento, confirmando o esperado para uma espécie de metabolismo CAM. *B. gounelleana* mostrou uma queda contínua da condutância estomática conforme a atmosfera ia se aquecendo e concomitante ao aumento do déficit de pressão de vapor, sugerindo uma estratégia conservativa do conteúdo hídrico foliar.

As taxas de respiração de *B. gounelleana* e *C. isabellae* mostram que qualquer temperatura acima de 15° C demanda de substancial acréscimo nos gastos metabólicos, o que pode ser compensado pela fotossínetese em *B. gounelleana* em temperaturas muito altas (até mais de 43 °C) porém em *C. isabellae* até 27 °C, isto é, nesta espécie o limiar já está próximo dos máximos de temperatura do ar registrados atualmente.

O aumento da respiração mensurado como Q_{10}, isto é, a razão de aumento entre duas temperatura distantes de 10° C, foi significativamente maior entre 15 – 25° C (Q_{10} = 6,94 e 3,05 para *B.gounelleana* e *C. isabellae*, respectivamente), quando comparados ao intervalo 25 – 35° C (Q_{10} = 2,77 e 1,90 para *B.gounelleana* e *C. isabellae*, respectivamente).

Gráfico 9 – Análise das trocas gasosas e fluorometria em três espécies rupícolas do Alto Itatiaia – *Barbacenia gounelleana*, *Chionolaena isabellae* e *Fernsea itatiaiae* – ao longo da escala de aquecimento da folha ou do ar.



Legenda: **A**. Taxa de assimilação fotossintética líquida (µmol $CO_2.m^{-2}.s^{-1}$); **B**. Eficiência Fotoquímica do Fotosistema II (adimensional); **C**. Condutância estomática (mmol $H_2O.m^{-2}.s^{-1}$). A linha azul representa o déficit de pressão de vapor e sua evolução ao longo da temperatura (8000 ppm H_2O, constante ao longo das temperaturas); **D**. Taxa de respiração no escuro (µmol $CO_2.m^{-2}.s^{-1}$). Dados coletados no inverno (Jul de 2018) na montanha do Couto, Serra da Mantiqueira, Brasil (n=3).

Fonte: O autor, 2018.

6.4. **Discussão**

A análise da flora do alto Itatiaia mostrou uma variação na origem filogeográfica das espécies (RIBEIRO, 2002), o que, do mesmo modo, se refletiu em uma variação nas respostas

à temperatura para vários parâmetros fotossintéticos (ex. temperatura limite do aparato fotoquímico – 40°, 42° e 47° C, Fig. 12B). Muito embora, a T_{opt} e A_{opt} (Temperatura ótima e Assimilação ótima, *sensu* Way &Yamori, 2014) para as três espécies sejam uniformes e estejam centralizadas próximo aos 15° C, coincidindo com as temperaturas diárias mais frequentes ao longo do ano. Este resultado concorda parcialmente com os resultados anteriormente encontrados para espécies tropicais, onde a T_{opt} das espécies igualmente se apresentaram centralizadas e seguiram as temperaturas médias do dia (TAN et al., 2017, SLOT & WINTER 2017a), contudo, as T_{opt} encontradas foram majoritariamente ao redor de 25° C e entre 30 – 32° em ambientes de baixas latitudes (próximas ao equador, SLOT & WINTER, 2017a). O efeito do gradiente altitudinal, e por tanto, o esfriamento da faixa de variação térmica diária, contribuiu para as T_{opt} estarem próximas a 15° C, e ao contrário do encontrado por Bahar et al. (2017) e Varhammar et al. (2015), para os quais as temperaturas do local foram preponderantes na resposta à temperatura quando comparada com a origem filogenéticas das espécies ou à sua categoria funcional. Os nossos resultados concordam com o encontrado por Slot & Winter (2017b). Contudo vale destacar, que estes três estudos desenvolveram análises em espécies tropicais florestais, enquanto as espécies tropicais aqui avaliadas pertencem à uma vegetação rupícola aberta e estariam expostas ao calor convectivo da rocha e irradiância completa ao longo do curso diário. Aumentanto a entrada de energia na folha, tanto em ondas longas como em ondas curtas.

Acima da T_{opt}, a condutância estomática junto com o efeito da temperatura sobre a ativação da Rubisco (SAGE & KUBIEN, 2007) são os fatores preponderantes na limitação da fotossíntese líquida. O grau de queda da fotossíntese líquida através do aquecimento também recebe importante contribuição do aumento da respiração (WAY, OREN & KRONER, 2015; WAY & YAMORI, 2014). Os resultados que encontramos para o comportamento na condutância estomática e na respiração (no escuro, R_{dark}) mostram significativas diferenças interespecíficas para as espécies estudadas. Isto é, embora as espécies mostrem comportamento convergente em relação ao funcionamento ótimo, elas mostram significativa diferenças quanto ao comportamento de resposta ao estresse (e.g. discrepância em Q_{10} entre *C. isabellae* e *B. gounelleana*).

Slot & Winter (2016) ressaltaram a importância de se avaliar o potencial de aclimatação que as espécies tropicais possuem em relação ao aquecimento, uma vez que estas já passaram, ao longo da escala evolutiva, por eventos de variação de temperatura do ambiente, e desta maneira, poderiam conter respostas ontogenéticas à este fator. Way &

Yamori (2014) propõe uma uniformização da definição dos parâmetros utilizados para avaliar a aclimatação à temperatura para a melhor catergorização dos resultados experimentais encontrados na literatura em “detrativa” ou “adaptativa/construtiva” . Por fim, a avaliação da resposta da fotossíntese à atmosfera aquecida em tempo instantâneo ou através de uma resposta ontogenética (photosynthetic adjustments vs. photosynthetic acclimation, *sensu* Way & Yamori, 2014) permite identificar a histerese da resposta de aclimatação. Os resultados do experimento aquecimento por câmara de topo aberto e da determinação de temperaturas limites, quando visto juntos, mostram que, novamente, existe uma diversidade de resposta entre as espécies. Enquanto *C. isabellae* mostrou queda na assimilação de carbono ao longo do aquecimento instantâneo do ar (Gráfico 9A), paralelamente não apresentou qualquer estresse fotoquímico através do aquecimento à longo prazo (Gráfico 8C); *B. gounelleana* manteve sempre assimilação líquida positiva ao longo do aquecimento instantâneo (Gráfico 9A) e em conjunto apresentou influência variada do aquecimento à longo prazo na fotoquímica foliar - no inverno uma resposta “adaptativa”, e no verão uma resposta “detrativa” (Gráfico 8D).

Os parâmetros fotossintéticos foliares avaliados através da resposta rápida ao aquecimento apresentaram sempre comportamento “detrativo” quando as temperaturas se afastaram de 15 °C , isto é, reduzindo a eficiência metabólica (fotossíntese líquida ou respiração avaliada no escuro), porém, a velocidade de detração ao longo da temperatura foi significativamente diferente entre as espécies. De tal modo que a partir de de 25° - temperatura máxima já observada no clima atual – *Chionolaena isabellae* e *F. itatiaiae* já apresentam Assimilação líquida (fotossíntese – respiração) próxima a zero (Gráfico 9A), sugerindo que qualquer aumento de temperatura já afetaria estas espécies. Esta questão remonta à possibilidade de as espécies tropicais já estaram enquadradas termicamente no seu limite (DOUGHTY & GOULDEN, 2008). Em especial para as espécies rupícolas, sugere que na variação térmica diária e sazonal exista apenas “janelas” temporais de oportunidade de desempenho fotossintético, fato que pode estar relacionado o crescimento lento observado para esta flora (RIBEIRO, 2002; POREMBSKI & BARTLOTT, 2012), e acarreta em maior dificuldade de recuperação após impacto. Provavelmente, em cenários futuros de aquecimento climático, estas “janelas” se tornem ainda menos frequentes. Por outro lado, *B. gounelleana* manteve resultados positivos de assimilação mesmo em temperaturas extremamente altas, e isto indica que a ocorrência e crescimento desta espécies seriam menos afetados e esta via sucessional preponderaria em cenários ambientais mais quentes que o atual.

O resfriamento foliar está, certamente, ligado à transpiração de água através da abertura estomática, onde a evasão de moléculas de água acaba por determinar a dimuição da temperatura no mesofilo. Sobre um outro olhar, contudo, a desidratação foliar apresenta um aumento exponencial ligado à subida do déficit de pressão de vapor folha-atmosfera ao longo da escala de temperatura. A investigação da resistência de plantas tropicais ao estresse térmico têm mostrado uma forte limitação estomática em ambientes aquecidos (HETHERINGTON & WOODWARD, 2003), e esta representa o principal fator limitante à manutenção das taxas fotossintéticas (SLOT & WINTER, 2017b). Mais além, as espécies que possuem o metabolismo CAM, que é ligado ao fechamento estomático durante o período mais quente do dia, apresentam o fenômeno de depressão do meio-dia (LÜTTGE, 2004) e, provavelmente possuem um aparato metabólico de chaperonas para conservar a estrutura das moléculas ligadas à fotossíntese, embora este tema tenho sido pouco estudado na literatura (YAMORI et al., 2014). Folhas de metabolismo CAM podem mostrar duas T_{opt} distintas para a aquisição de luz (ETR ao longo do dia) e carboxilação (J_{cmax} ao longo da noite; YAMORI et al., 2014). *Fernseea itaitiaie*, bromélia CAM de distribuição restrita ao Alto Itaitiaia, mostrou queda na fotoquímica, Fv/Fm, somente em temperaturas muito altas (47° C, Gráfico 9B), entretanto, o ponto de compensação térmica da assimilação de carbono ocorreu próximo a 25° C (Gráfico 9A), e a abertura estomática não foi influenciada pela temperatura (Gráfico 9C). Isto é, o aumento de temperatura atmosférica teria mais impacto sobre os processos de aclimatação noturnos. De fato, a análise do estresse fotoquímico só ocorreu nas câmaras de aquecimento durante o inverno (Gráfico 8A), muito provavelmente onde o resfriamento noturno e carboxilação não ocorreram em acordo com o ritmo regular da planta. Vale ressaltar que durante o inverno é que ocorrem as mais longas exposições luminosas durante o dia, haja visto a menor frequência de nebulosidade (veja seção Área de Estudo desta dissertação).

A abertura estomática também foi um fator de variação entre espécies de metabolismo C3. Surprendentemente, *C. isabellae*, uma asterácea ereta de folhas pilosas, não apresentou restrição estomática a partir de 25° C, e permitiu a livre condutância de água através dos estômatos, mostrando padrão que seguiu o aumento de déficit de pressão de vapor (Gráfico 9C). De outro modo, *B. gounelleana* apresentou aumento de restrição estomática concomitante ao aquecimento, mostrando padrão habitual que concorda com o encontrado para outras espécies tropicais (PONS & WELSCHEN, 2003; LOYD & FARQUHAR, 2008). *Chionolaena isabellae*, compartilha uma origem nos paramos andinos, isto é, um ambiente montano. Nestes ambientes a ocorrência de neblinas é comum em razão da altitude. A

ocorrência de neblinas no Alto Itatiaia pode ter efeito sobre o balanço hídrico das espécies (MATOS, 2018; comun. pess.). A não-restrição estomática observada em *C. isabellae* evidencia que não há mecanismo de aclimatação para temperaturas acima de 25° C, o quê pode ser oriundo de um história ecológica-evolutiva ligada à ambientes alto-montanos onde a demanda evaporativa do ar é limitada pela alta frequência de neblinas ou massas de ar com alta umidade absoluta. Os dados de abertura estomática concordam com a variação sazonal no conteúdo relativo de água na folha encontrado por Ramalho (2018, veja capítulo 1 desta dissertação). Por fim, uma vez que *C. isabellae* não apresenta restrição no ostíolo, a perda de água estará delegada à estrutura interna da folha (VON CAEMMERRER & EVANS, 2015) e, deste modo, nossos resultados indicam que cabe investigar a condutância mesofílica como um fator estrutural de resposta ao estresse térmico.

Em uma visão geral das três espécies investigadas para as temperaturas limites, a queda no Fv/Fm e em temperatura muito acima da T_{opt} para assimilação mostra que a limitação estomática e a limitação química na ativação da enzimas de carboxilação no ciclo Calvin-Benson vêm antes antes da limitação por ETR no ambiente natural (WISE et al., 2004; SAGE & KUBIEN, 2007; VARHAMMAR et al. 2015; SLOT & WINTER, 2017a). Contudo, nos trópicos as condições de alta irradiância luminosa ocorrem concomitantes ao aquecimento atmosférico e sugerimos que as investigações futuras com experimentos de manipulação da temperatura incorporem variações de luminosidade acima de 1500 µmol PPFD.

Os efeitos das mudanças climáticas globais impõe às plantas uma atmosfera mais quente e com concentrações de dióxido de carbono aumentada. Para compreender o efeito destas novas condições sobre os vegetais, muitos estudos têm realizado experimentos manipulativos, seja no campo ou em laboratório (WU et al., 2011), embora os trópicos tenham sido estudados em menor frequência (ARONSON & MCNULTY, 2009). Os experimentos de simulação de aquecimento realizados neste estudo reforçam que as respostas ao aumento de temperatura podem ocorrer com diferentes resultados em uma análise do aquecimento imediato ou de longo prazo, variar entre espécies e que o efeito sinérgico com outros fatores ambientais pode afetar a resultante da análise. Finalmente, a diferença de resistência à temperatura observada entre as duas espécies inciadoras de sucessão – *B. gounelleana* e *F. itatiaiae* – apontam para uma perda de diversidade ecológica-funcional em cenário climáticos futuros.

DISCUSSÃO GERAL

O estudo da fisiologia dos vegetais terrestres mostra frequentemente que o metabolismo desta forma de vida, autótofra e séssil, apresenta particularidades, como por exemplo, uma biquímica muito diversa e responsável por gerenciar as interações bióticas e abióticas destes organismos (CRONQUIST, 1981). Uma vez que estes estão restritos no espaço durante o curso de vida de um indivíduo, as plantas tornam-se necessariamente sujeitas à variação ambiental, mostrando inclusive ampla gama de respostas plásticas e adaptativas (BRADSHAW, 1965; BOARDMAN, 1977; LEVITT, 1980; MCINTYRE et al., 1999). Desta consideração, deriva então a questão: em face às aceleradas mudanças climáticas atuais, qual é o potencial de aclimatação das populações vegetais? A flora dos trópicos, ambientes já geograficamente quentes, pode estar ainda mais próxima do seu limite funcional para a temperatura, quando comparadas à outros ambientes/comunidades (DOUGHTY & GOULDEN, 2008), destacando a relevância de se aprofundar o conhecimento neste tema.

O estudo das migrações paleobotânicas aponta que as populações vegetais, em resposta aos ciclos de aquecimento atmosférico, migra em altitude e/ou latitude (WING et al. 2005). A migração latitudinal para as vegetações dos trópicos têm se mostrado pouco relevante (COLWELL et al., 2008). De fato, uma rápida análise do território da faixa tropical mostra que em se excluindo as barreiras geográficas (em especial regiões desérticas) e as regiões já perdidas pela tividade antropogênica, só há duas possibilidades de migração latitudinal: o sul da América do Sul e o norte da Ásia. Mais além, dada a amplitude da faixa de variação em temperatura por distância, admite-se que, para os trópicos, a migração altitudinal é mas efetiva que a migração latitudinal (COLWELL et al., 2008). Isto posto, as montanhas tropicais acabam por ser entendidas como refúgios ecológicos possíveis (JANZEN, 1967). Os estudos das flutuação populacionais em gradientes altitudinais toma relevância especial para grupos ou famílias botânicas com centro de distribuição tropical, como por exemplo, as palmeiras (PORTELA et al., 2010; PORTELA & SANTOS, 2014). Entretanto, se as espécies migram ao longo do gradiente antitudinal, isto é, com o aquecimento atmosférico tendem a subir o gradiente, as espécies de topo de montanham passam a enfretar dois desafios adicionais: a ausência de potencial de migração e o atrito com as populações sub-montanas (COLWELL et al., 2008). A partir desta impossibilidade de ajuste geográfico e da pressão competitiva, para as espécies do topo da montanha passa a ser

de absoluta relevância o potencial fisiológico de aclimatação às alterações climáticas, e a avaliação da queda do seu desempenho ao longo da escala de temperatura.

Slot & Winter (2016) propõe que as espécies possam conter em seus metabolismos respostas de aclimatação ao aumento de temperatura que foram incorporadas ao longo de uma história ecológica-evolutiva que submeteu às plantas do passado à momentos de seleção flutuações nas condições abióticas. Assis & de Mattos (2016) apontam para a necessidade de aprofundamento do conhecimento das capacidades de respostas das plantas tropicais de campos de altitude (topo de montanha) às mudanças climáticas globais e que nenhum estudo foi feito neste sentido para as montanhas do sudeste brasileiro. Mais além, estes autores apontam para a importância da especialização funcional da flora endêmica dos topos de montanha tropicais. Isto é, embora exista uma potencialidade de aclimatação na história ecológica-evolutiva da flora tropical para a temperatura, é importante perceber que alguns mecanismos de seleção, neste caso a especialização no hábitat de topo de montanha, inversamente atuam como pressão de estreitamento da faixa de ótimo funcional. Os resultados que encontramos nestes estudo para a flora dos *inselbergs* do Alto Itatiaia aponta para uma diversidade de estratégias, onde espécies ocorrendo lado a lado e ocupando o mesmo papel ecológico (inicadoras de sucessão) – *B. gounelleana* e *F. itatiaiae* – apresentam faixas distintas de manutenção positiva da assimilação de carbono ao longo do aquecimento (10-45° C e 10°-25° C, respectivamente).

Contudo, é preciso ver as mudanças climáticas, não apenas como aquecimento atmosférico, mas como um conjunto de alterações concatenadas. Para montanhas tropicais é importante lembrar que a incidência luminosa nestas regiões é maior do que em montanhas temperadas, para tanto o aquecimento atmosférico (energia em radiação de onda longa) se adiciona a entrada de energia pela luz (radiação de onda curta). Provavelmente o frequente negligenciamento desta sinergia advém do fato que estudos manipulativos para o entendimento das mudanças climáticas nas montanhas tropicais ainda são escassos, fato que corroboramos com Assis & de Mattos (2016). Para tanto, a dinâmica climática do ambiente do topo de montanha já possui suas particularidades, e os *inselbergs* inseridos nesta matriz, vão ainda além, porque o fluxo de energa térmica recebe a contribuição do calor convectivo da rocha e o mesmo substrato determina baixa retenção e disponibilidade hídrica. Os resultados deste estudo, para as espécies dos *inselbergs* do Alto Itatiaia, sugerem uma menor sensibilidade térmica do aparato fotoquímico (observado nas poucas quedas do Fv/Fm nas OTCs e nas altas temperaturas limites para queda em Fv/Fm e nas T_{crit} para Fo) do que da

cinética de carboxilação (observado nas temperaturas de queda assimilação líquida). Este comportamento já é relatado para plantas de metabolismo CAM que passam por aumento da temperatura foliar durante o fechamento estomático diurno (YAMORI et al., 2014), em especial as de ocorrência em ambientes áridos. O mesmo padrão foi encontrado em estudos na flora da Austrália (O´SULLIVAN et al., 2017; ZHU et al., 2018) e para as florestas secas da Índia (SASTRY & BARUA, 2017) e para estes ambientes tropicais a interação entre o estresse térmico e o estresse hídrico foi significativa. Os resultados do presente estudo mostraram que a tolerância a perda d´água ao longo do aquecimento pode variar entre espécies, e sugerimos que este possa se relacionar com as categorias de plantas 'anisoídricas' e 'isohídricas', podendo ser esta relação melhor compreendida em estudos futuros com esta abordagem.

A sinergia entre os fatores climáticos, por tanto, têm se mostrado como um fator importante na compreensão da relação das espécies tropicais com a temperatura e é importante para as previsões ecológicas futuras. Para o clima do Alto Itatiaia observamos uma queda de aproximadamente 1,1 °C na média da temperatura máxima para um século de intervalo de tempo (veja comparação do climodiagrama de Safford, 1999a e b, e o climodiagrama deste estudo). Entretanto, a análise cuidadosa das alterações climáticas já observados pelo registrado na literatura e os dados atuais, mostram uma marcante perda do período superúmido no perído chuvoso para o Alto do Itatiaia, o que não corrobora as previsões climáticas previstas pelo WordClim (*Worldclim*) para o local, em que este prevê um aumento de pluviosidade. Importante perceber que para uma vegetação de topo de montanha (2400 m de altitude em média) a ausência de nebulosidade e/ou neblina aumenta significativamente o aporte de energia luminosa, senão somente em Radiação Fotossintéticamente Ativa, mas também em radiação de ondas mais curtas, mas carregadas de energia, tais como todo o espectro do ultravioleta. Para tanto, a redução do período superúmido, pode não estar principalmente relacionada a oferta hídrica para comunidade estudada, inclusive porque a retenção do substrato rochoso é baixa, mas potencialmente relacionado ao aumento de irradiação sobre a vegetação. Desta maneira, os estudos manipulativos realizados no campo se enriquecem quando estudos em ambiente controlado são realizados em conjunto porque permitem o entendimento das diferenças inerentes entre espécies em contraste ao seus potenciais plásticos (ZHU et al., 2018). Os padrões encontrados para as espécies do Alto Itatiaia (por exemplo, o padrão de quedas em Fv/Fm nas OTCs)

sugerem que as fontes de variação da resposta ao aquecimento global para espécies tropicais, além de incluírem a temperatura do ar e a disponibilidade hídrica, inclua também a luz.

O potencial de aclimatação das espécies estudadas nesta dissertação sugere uma maior interelação deste potencial com a linhagem filogenética da espécie e seu ambiente ancestral do que com o grupo funcional ao qual pertence, tal como ocorreu na comparação entre *B. gounelleana* de origem filogeográfica no Cerrado e *C. isabellae* de origem filogeográfica nos Páramos Andinos. Neste sentido, é possível que o aquecimento atmosférico leve a uma perda de histórias ecológico-evolutivas, e que possivelmente não poderiam permitir um substituição destas por espécies funcionalamente similares no presente.

PERSPECTIVAS FUTURAS

- Monitoramento contínuo da energia foliar - Os resultados desta dissertação mostram que há uma vairação temporal, tanto sazonal quando diária, no balanço térmico das espécies rupícolas dos inselbergs da Serra da Mantiqueira. Entretanto, as trocas de energia entre a rocha e a folha e entre a rocha e o ar podem conter uma defasagem de tempo com um intervalo significativo, para tanto, em estudos futuros a utilização de registros contínuos para os fluxos de energia: entrada de luz, trocas térmicas, entre outros, revelaria em mais detalhes sobre as relações causais e as variações intradiárias.

- Avaliação de variáveis de crescimento e esforço reprodutivo – Estudos manipulativos para entendimento do potecial de aclimatação à temperatura devem ser continuados, entretanto, as variáveis de crescimento e esforço reprodutivos podem igualmente mostrar as resultantes das alterações no metabolismo para o indivíduo. Os futuros estudos devem continuar as duas abordagens.

- Mensuração dos açúcares não-estruturais e composição lipídica da membrana plasmática – A fotossíntese é um processo fortemente relacionado à temperatura e as consequências do aumento da temperatura sobre este processo tem importância central para o metabolismo primário das plantas. Por sua vez, o investimento em açúcares para termo-proteção afeta o balanço final da utilização do carbono fixado e, ainda, a proporção de lipídios nas membranas confere uma termoproteção em altas temperaturas, mas induz a rigidez em baixas temperaturas e deve ser investigada para ambientes tropicais contrastantes.

- Prolongamento do tempo de avaliação do experimento das Open Top Chambers – O presente estudo acompanhou a aclimatação das espécies em Open Top Chambers para o intervalo de 1 ano e meio, contudo as espécies de *Inselberg* possuem crescimento lento e, concomitante, baixa taxa de renovação foliar. Estudos futuros que possam monitorar períodos maiores de tempo podem ser especialmente relevantes para esta vegetação.

- **Avaliação da aclimatação estrutural na folha –** Os resultados que foram encontrados neste estudo apontam para uma possível aclimatação estrutural da folha em espécies cuja a condutância estomática foi intimamente relacionada com o aumento da temperatura atmosférica, delegando resistência mesofílica a possibilidade de retenção hídrica em altos déficits de pressão de vapor da atmosfera.

REFERÊNCIAS

AB'SABER A. Os domínios morfoclimáticos da América do Sul. Usp, Brasil, 1980.

AKER S., HEALY W. Temporal pattern of growth in Alstroemeria. HortScience 25(9), 1990.

ALLAKHVERDIEV S. I., KRESLAVSKI V. D., KLIMOV V.V., LOS D.A., CARPENTIER R., MOHANTY P. Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis. Photosynthesis Research 98:541-550, 2008.

ALVES RG. Análise dos padrões de distribuição biogeográficos dos campos de altitude no Parque Nacional do Itatiaia RJ/MG. 2013, 157f. Dissertação de Mestrado em Programa de Pós Graduação em Geografia - Pontificia Universidade Catolica do Rio de Janeiro, 2013.

ALVES, RG.; ZAÚ, A.S. & OLIVEIRA, R.R. Flora dos Campos de Altitude em quatro áreas do maciço do Itatitaia, nos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais, Brasil. Pesquisas Botânicas, 69:109-140, 2016.

ARONSON E.L. & MCNULTY S.G. Appropriate experimental ecosystem warming methods by ecosystem, objective and practicality. Agricultural and Forest Meteorology 149(11):1791-1799, 2009.

ASSIS M.V., DE MATTOS E.A. Vulnerability of Brazilian high-altitude grasslands to climate change. Oecologia Australis 20(2):162-174, 2016.

BAHAR N.H., ISHIDA F.Y., WEERASINGHE L.K., GUERRIERI R., O'SULLIVAN O.S., BLOOMFIELD K.J., ASNER G.P., MARTIN R.E., LLOYD J., MALHI Y., PHILLIPS O. L., MEIR P., SALINAS N., COSIO E.G., DOMINGUES T.F., QUESADA C.A., SINCA F., VEGA A.E., CCORIMANYA P.P.Z., DEL AGUILA-PASQUEL J., HUAYPAR K.Q., TORRES I.C., LOAYZA R.B., TAPIA Y.P., OVALLE J.H., LONG B.M., EVANS J.R., ATKIN O.K. Leaf-level photosynthetic capacity in lowland Amazonian and high-elevation Andean tropical moist forests of Peru. New Phytologist 214(3), 2016.

BERRY J & BJÖRKMAN O. Photosynthetic response and adaptation to temperature in higher plants. Annual Review of Plant Physiology 31:491-543, 1980.

BEWLEY J.D., KROCHKO J.E. Desiccation tolerance. Physiological plant ecology. Encyclopedia of plant physiology 2:325-378, 1982.

BJORKMAN O., BADGER M.R. & ARMOND P.A. Response and adaptation of photosynthesis to high temperatures. In Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress (eds N. C. Turner & P, J, Kramer), pp 233-249, 1980.

BOARDMAN, N.K. Comparative photosynthesis of sun and shade plants. Annual Review of Plant Physiology, 28:355-77, 1977.

BOKHORST S., HUISKES A., AERTS R., CONVEY P., COOPER E., DALEN L., ERSCHBAMER B., GUDMUNDSSON J., HOFGAARD A., HOLLISTER R., JOHNSTONE J., JÓNSDÓTTIR I., LEBOUVIER M., VIJVER B. WAHREN C., DORREPAAL E. Variable temperature effects of Open Top Chambers at polar and alpine sites explained by irradiance and snow depth. Global Change Biology 19(1):64-74, 2013.

BRADE A.C. A flora do Parque Nacional do Itatiaia. Boletim do Parque Nacional do Itatiaia 5:1-114, 1956.

BRADSHAW A.D. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. Advances in Genetics 13:115-155, 1965.

BURKE A. Inselbergs in a changing world- global trends. Diversity and Distributions, 9: 375-383, 2003.

CAMERIK A.M., WERGER M.J.A. Leaf characteristics of the flora of the high plateau of Itatiaia, Brasil. Biotropica 13(1):39-48, 1981.

CAVALERI M.A., REED S.C., SMITH W.K., WOOD T.E. Urgent need for warming experiments in tropical forests. Global Change Biology 21: 2111–2121, 2015.

CATTAI M B. Anatomia em Velloziaceae: caracteres, evolução e filogenia. Dissertação de Mestrado - Universidade de São Paulo (USP). Instituto de Biociências São Paulo, 2007.

CHAPIN III, F.S., AUTUMN, K. & PUIGNARE, F. Evolution of suites of traits in resposnse to environmental stress. The American Naturalist, 142: S78-S92, 1993.

COLWELL R.K., BREHM G., CARDELÚS C.L., GILMAN A.C.; LONGINO J.T. Global warming, elevational range shifts, and lowland biotic attrition in the wet tropics. Science 322(5899):258-261, 2008.

CONDACK, J.P.S. Pteridófitas ocorrentes na região alto montana do Parque Nacional do Itaiaia: análise florística e estrutural. 2006, 120f. Dissertação de mestrado. Escola Nacional de Botânica Tropical, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

CONDIT R., ENGELBRECHT B.M., PINO D., PÉREZ R. & TURNER, B.L. Species distribution in response to individual soil nutrientes anda seasonal drougth across a community of tropical trees. Proceedings Naturalist Academy Science (USA) 110:5064-5068, 2013.

CORLETT, R.T. Impacts of warming on tropical lowland rainforests, Trends in Ecology and Evolution, 26, 606–613, 2011.

CRONQUIST, A. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, 1981.

CUNNINGHAM, S.C. & READ, J. Do temperate rainforest trees have a greater ability to acclimate to changing temperatures than tropical rainforest trees? New Phytologist 157, 55–64, 2003.

CURTIS C.A., BRADLEY B.A. Plant distribution data show broader climatic limitis than expert-based climatic tolerance estimates. PLoS ONE 11(11):e0166407, 2016.

CURTIS E.M., KNIGHT C.A., PETROU K., LEIGH A. A comparative analysis of photosynthetic recovery from thermal stress: a desert plant case study. Oecologia 175(4):1051-1061, 2014.

DAU L. Microclimas das Restingas do Sudeste do Brasil: A resting interna de Cabo Frio. Boletins do Museu Nacional: 79-133, 1960.

DE BOECK H.J, DE GROOTE T, NIJS I. Leaf temperatures in glasshouses and open-top chambers. New Phytologist, 1155–1164, 2012.

DIFFENBAUGH N.S. & SCHERER M. Observational and model evidence of global emergence of permanent, unprecedented heat in the 20th and 21st centuries. Climatic Change 107(3-4):615-624, 2011.

DOUGHTY, C.E. & GOULDEN, M.L. Are tropical forest near a high temperature threshold? Journal of Geophysical Research – Biogeosciences, 113, 2008.

DUBOIS M., GILLES K.A., HAMILTON J.K., REBERS P.A., SMITH P. Colorimetric method for determination of sugars and related substances, Analytical Chemistry 28, 350–356, 1956.

DULLINGER S., GATTRINGER A., THUILLER W., MOSER D., ZIMMERMANN N.E., GUISAN A., WILLNER W., PLUTZAR C., LEITNER M., MANG T., CACCIANIGA M., DIRNBÖCK T., ERTL S., FISCHER A., LENOIR J., SVENNING J., PSOMAS A., SCHMATZ D. R., SILC U., VITTOZ P., HÜLBER K. Extinction debt of high-mountain plants under twenty-first-century climate change. Nature Climate Change 2:619-622, 2012.

EVANS J. R., VON CAEMMERER S. Temperature response of carbon isotope discrimination and mesophyll conductance in tobacco. Plant, cell & environment 36(4), 745-756, 2012.

FARQUHAR G.D., VON CAEMMERER S., BERRY J.A. A biochemical model of photosynthetic CO2 assimilation in leaves of C3 species. Planta 149(1):78-90, 1980.

FERNANDÉZ-MARÍN B., NEUNER G., KUPRIAN E., LAZA J.M., GARCÍA-PLAZAOLA J.I., VERHOEVEN A. First evidence of freezing tolerance in a resurrection plant: insights into molecular mobility and zeanxanthin synthesis in the dark. Physiologia Plantarum 163(4), 2018.

FURTADO, L.M.V. et al. Plano de Uso Público - Parque Nacional do Itatiaia. Ministério do meio ambiente, Instituto Brasileiro do meio ambiente e dos recursos naturais renováveis, Diretoria de Conservação e Vida Silvestre, Departamento de Unidades de Conservação, Sub programa de Uso Público. Projeto BRA/00/009 - PNUD, Contrato No 2000/005501, termo de referencia Nº50.516 - PNUD, 2001.

GARWOOD N.C. Functional morphology of tropical tree seedlings. In The ecology of tropical forest tree seedlings (M.D. Swaine ed.). The Parthenon Publishing Group, Paris, 1996.

GATES, D. Biophysical Ecology. Springer-Verlag, New York, Heildelberg, Berlin, 1980.

GIAN-RETO W. Plants in a warmer world. Perspectives in plant ecology, evolution and systematics 6(3): 169-185, 2003.

GUY C., KAPLAN F., KOPKA J., SELBIG J., HINCHA D.K. Metabolomics of temperature stress. Physiologia Plantarum 132:220-235, 2008.

HARTUNG W., SCHILLER P., DIETZ K.J. Physiology of poikilohydric plants. Progress in Botany 59:299-327, 1998.

HAZEL J.R. Homeoviscous adaptation in animal cell membranes. Advances in membrane fluidity 3:149-189, 1988.

HETHERINGTON A.M. & WOODWARD F.I. The role of stomata in sensing and driving environmental change. Nature 424:901-908, 2003.

HIROSAKA, K., ISHIKAWA, K., BORJIGIDAI, A. MULLER, O. & ONODA, Y. Temperature acclimation of photosynthesis: mechanisms involved in the changes im temperature dependence of photosynthetic rate. Journal of Experimentla Botany, 57(2): 291-302, 2005.

HUNTINGFORD C., ZELAZOWSKI P, GALBRAITH D, MERCADO L.M, SITCH S, FICHER R. Simulated resilience of tropical rainforests to CO2-induced climate change. Nature (Geoscience) 6(4):268-273, 2013.

HUPP N., LLAMBI L.D., RAMÍREZ L., CALLAWAY R.M. Alpine cushion plants have species-specific effects on microhabitat and community structure in the tropical Andes. Journal of Vegetation Science 28(5):928-938, 2017.

INGRAM J., BARTELS D. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 47:377-403, 1996.

JANZEN D. H. Why mountain passes are higher in the tropics. American Naturalist 101, 233–49, 1967.

JARAMILLO C., OCHOA D.,CONTRERAS L., PAGANI M., CARVAJAL-ORTIZ H., PRATT L.M., KRISHNAN S., CARDONA A., ROMERO M., QUIROZ, L. RODRIGUEZ G., RUEDA M.J.,LA PARRA F., MORÓN S., GREEN W., BAYONA

G., MONTES C., QUINTERO O., RAMIREZ R., MORA G. SCHOUTEN S., BERMUDEZ H., NAVARRETE R., PARRA F., ALVARÁN F., ALVARÁN M., OSORNO J., CROWLEY J.L., VALENCIA V., VERVOORT J. Effects of rapid global warming at the Paleocene–Eocene boundary on Neotropical vegetation. Science 330, 957–961, 2010.

KITAJIMA, K. & POORTER, L. Functional basis for resource niche partitioning by tropical trees. *In*: Carson, W.P., Schnitzer, S.A. (eds). Tropical forest community ecology. Blackwell, Oxford, pp172-188, 2008.

KÖPPEN, W. Climatologia: Com un estudio de los climas de la tierra. Fondo de cultura economica, Mexico, 1948.

KÖRNER C. The use of 'altitude' in ecological research. Trends Ecol Evol 22 (11): 569-574, 2007.

KÖRNER C., PAULSEN J. A world-wide study of high altitude treeline temperatures. Journal of Biogeography 31: 713-732, 2004.

KRAUSE G.H, WINTER K, KRAUSE B, JAHNS P, GARCÍA M, ARANDA J. & VIRGO A. High-temperature tolerance of a tropical treee *Ficus insípida*: metodological reassesment and climate change considerations. Functional Plant Biology 37(9):890-900, 2010.

KRAUSE G.H, CHEESMAN AW, WINTER K, KRAUSE B. & VIRGO A. Termal tolerance, net CO2 exchenge and growth of a tropical tree species, *Ficus insipida*, cultivated at elevated daytime and nighttime temperatures. Journal of Plant Physiology 170:822-827, 2013.

KRAUSE G.H., WINTER K., KRAUSE B., VIRGO A. Light-stimulated heat tolerance in leaves in two neotropical tree species, Ficus insipida and Calophyllum longifolium. Functional Plant Biology 42(1):42-51, 2015.

KOTAK S., LARKINDALE J., LEE U., VON KOSKULL-DÖRING P., VIERLING E., SCHARF K. Current Opinion in Plant Biology 10:310-316, 2007.

LAMBERS H., CHAPIN III F. S. & PONS T. L. Plant Physiological ecology. Editora Springer, 2ªedição, 2008.

LANGE O. L. Untersuchungen iiber den Warmehaushalt und Hitzeresistenz mauretanischer Wiisten-und Savannenpflanzen. Flora 147:595-651, 1959.

LARCHER W. & BAUER H. Ecological Significance of Resistance to Low Temperature. Em: Physiological Plant Ecology I Responses to the Physical Environment. Encyclopedia of Plant Physiology. Editora Springer, Vol. 12A, 403-438, 1981.

LARCHER W. Temperature stress and survival ability of Mediterrane sclerophyllous plants. Plant Biosystems, 134 (3) 279-295, 2000.

LARCHER W., KAINMÜLLER C. & WAGNER J. Survival types of high mountain plants under extreme temperatures. Flora 205:3-18, 2010.

LEADLEY P.W & DRAKE B.G. Open top chambers for exposing plant canopies to elevated CO_2 and for measuring net gas exchange. Plant Ecology 104(1): 3-15, 1993.

LENOIR J., GÉGOUT J.C., MARQUETT P.A., DE RUFFRAY P., BRISSE H. A significant upward shift in plant species optimum elevation during the 20th century. Science 320(5884):1768-1771, 2008.

LEVITT, J. Responses of Plants to Environmental Stress, Volume 1: Chilling, Freezing, and High Temperature Stresses. Academic Press, 1980.

LICHTENTHALER H.K. Chlrophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembrances. Methods in Enzymology 148:350-382, 1987.

LLOYD J, FARQUHAR G.D. Effects of rising temperatures and [CO2] on the physiology of tropical forest trees. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences 363(1498):1811–1817, 2008.

LÜTTGE, U. Ecophysiology of crassulaceam acid metabolism. Annals of Botany 93(6): 629-652, 2004.

LÜTTGE, U. Physiological Ecology of Tropical Plants. Spinger, Berlin, 2007.

MATOS F.S., FREITAS I. A.S., DOS SANTOS L. V.B., VENÂNCIO D.G., DA SILVEIRA P. S. Initial growthh of Dipteryx alata plants under water deficit. Revista Árvore 42(1):e420103, 2018.

MARTINELLI G. Mountain biodiversity in Brazil. Revista Brasileira de Botânica 30(4):587-597, 2007.

MAXWELL K. & JOHNSON G.N. Chlorophyll fluorescence – a practical guide. Journal of Experimental Botany 51(345):659-668, 2000.

MCINTYRE, S., DÍAZ, S., LAVOREL, S., & CRAMER, W. Plant functional types and disturbance dynamics–Introduction. Journal of Vegetation Science 10(5):603-608, 1999.

MEDINA B.M.O, RIBEIRO K.T. & SCARANO F.R. Plant-plant and plant-topography interactions in a rock outcrop at high altitude in southeastern Brazil. Biotropica 38(1): 27-34, 2006.

MEIRELLES S.T., DE MATTOS E.A., DA SILVA A.C. Potential desiccation tolerant vascular plants from southeastern Brazil. Polish Journal of Environmental Studies 6(4):17-21, 1997.

MENZEL A, SPARKS T.H, ESTRELLA N., ROY D.B. Altered geographic and temporal variability in phenology in response to climate change. Global Ecology and Biogeography 15, 498–504, 2006.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Instrução Normativa n. 6, de 23 de setembro de 2008. Espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção e com deficiência de dados, Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 set 2008. Seção 1, p.75-83, 2008.

MOLLO L., MARTINS M.C.M., OLIVEIRA V.F., NIEVOLA C.C., FIGUEIREDO-RIBEIRO R.C.L. Effects of low temperature on growth and non-structural carbohydrates of the imperial bromeliad Alcantarea imperialis cultured in vitro. Plant Cell Tissue Organ Culture 107:141-149, 2011.

MÜLLER J., SPRENGER N., BORTLIK N., BOLLER T., WIEMKEN A. Desiccation increases sucrose levels in Ramonda and Haberlea, two genera of resurrection plants in the Gesneriaceae. Physiologia Plantarum 100(1):153-158, 1997.

MULLET J.E., WHITSITT M.S. Plant cellular responses to water stress. Plant Growth Regulation 20(2):119-124, 1996.

NIU Y., XIANG Y. An overview of biomembrane functions in plant responses to high-temperature stress. Frontiers in Plant Science 9(915), 2018.

ODUM, E.P. Fundamentals of Ecology. USA, 546p, 1959.

O'SULLIVAN O.S., HESKEL M. A., REICH P.B., TJOELKER M. G., WEERASINGHE L. K., PENILLARD A., ZHU L., EGERTON J.J.G., BLOOMFIELD K. J., CREEK D., BAHAR N.H.A., GRIFFIN K.L., HURRY V., MEIR P., TURNBULL M.H., ATKIN O. K. Thermal limits of leaf metabolism across biomes. Global Change Biology 23(1) doi: 10.1111/gcb.13477, 2017.

ÖGREN E., NILSON, T. & SUNDBLAD L-G. Relationships between respiratory depletion of sugars and loss of cold hardiness in coniferous seedlings over-wintering at raised temperatures: indications of different sensitivities of spruce and pine. Plant, Cell and Environment 20:247-253, 1997.

PAN, Y., BIRDSEY R. A., PHILLIPS O.L., JACKSON R.B. The structure, distribution, and biomass of the world's forests. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 44:593–622, 2013.

PARMESAN, C. Ecological and evolutionary responses to recent climate change. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics 37, 637–669, 2006.

PAULSEN J., WEBER U.M., KÖRNER C. Tree growth near Treeline: Abrupt or Gradual Reduction with Altitude? Arctic, Antarctic, and Alpine Research 32 (1): 14-20, 2000.

PEAK D. & MOTT K. A. A new, vapour-phase mechanism for stomatal responses to humidity and temperature. Plant, Cell & Environment 34:162-178, 2011.

PERAUDEAU S., LAFARGE T., ROQUE S., QUIÑONES C.O., CLEMENT-VIDAL A., OUWERKERK P.D. VAN RIE J., FABRE D. Effect of carbohydrates and night temperature on night respiration in rice. Journal of Experimental Botany, 66: 3931-3944, 2015.

PONS T. L. & WELSCHEN R.A.M. Midday depression of net photosynthesis in the tropical rainforest tree Eperua grandiflora: contributions of stomatal and internal conductances, respiration and Rubisco functioning. Tree Physiology 23(14):937-947, 2003.

POREMBSKI, S. & BARTHLOTT. W. Granitic and gneissic outcrops (inselbergs) as centers of diversity for dessicant-tolerant vascular plants. Plant Ecology, 151(1): 19-28, 2000.

POREMBSKI S. & BARTHLOTT W. Inselbergs: Biotic diversity of isolated rock outcrop in Tropical and Temperate regions. Editora Springer 1ª edição, 2012.

POREMBSKI S. Tropical inselbergs: habitat types, adaptive strategies and diversity patterns. Revista Brasileira de Botânica 30(4):579-586, 2007.

PORTELA, R.C.Q. Dinâmica populacional de três espécies de palmeiras em uma paisagem fragmentada no domínio da Mata Atlântica, RJ. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

PORTELA, R.Q.; BRUNA, E.M. & SANTOS, F.A.M. Are protected áreas really protecting populations? A test with am Atlantic rain forest palm. Tropical Conservation Science, 3(4): 361-372, 2010.

PORTELA, R.Q. & SANTOS, F.A.M. Impact of forest fragmente size on the population structure of three palm species (Arecaceae) in the Brazilian Atlantic Rainforest. Revista de Biologia Tropical, 62: 433-442, 2014.

PRECHT H., CHRISTOPHERSEN J., HENSEL H. & LARCHER W. Temperature and Life. Editora Springer,1ª Edição, 1973.

QUINN P.J. Regulation of membrane fluidity in plants. Physiological regulation of membrane fluidity 293-322, 1988.

RAUNKIÆR C. *The* Life Forms of Plants and Statistical Plant Geography, Oxford, Oxford University Press., 1934.

RAISON J.K., BERRY J. A., ARMOND P.A., PIKE C.S. Membrane properties in relation to adaptation of plants to temperature stress: Adaptation of plants to water and high temperature stress 261-276, 1980.

REYER, C.P.O., LEUZINGER, S., RAMMIG, A., WOLF, A., BARTHOLOMEUS, R.P., BONFANTE, A., DE LORENZI, F., DURY, M., GLONING, P., ABOU JAOUDÉ, R., KLEIN, T., KUSTER, T.M., MARTINS, M., NIEDRIST, G., RICCARDI, M., WOHLFAHRT, G., DE ANGELIS, P., DE DATO, G., FRANÇOIS, L., MENZEL, A.

& PEREIRA, M. A plant's perspective of extremes: terrestrial plant responses to changing climatic variability. Global Change Biology, 19:75-89, 2013.

RIBEIRO K.T. Estrutura, Dinâmica e Biogeografia das Ilhas de Vegetação Rupícola do Planalto do Itatiaia, RJ. 117f. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2002.

RIBEIRO K.T., MEDINA B. M.O., SCARANO F.R. Species composition and biogeographic relations of the rock outcrop flora on the high plateau of Itatiaia, SE-Brazil. Revista Brasileira de Botânica 30(4):623-639, 2007.

RIZZINI, C.T. Tratado de Fitogeografia do Brasil: aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos. 2ª ed. Âmbito Cultural Edições Ltda, 1997.

RUELLAND E., ZACHOWSKI A. How plants sense temperature. Environmental and Experimental Botany 69:225-232, 2010.

SADE N, GEBREMEDHIN A & MOSHELION M. Risk-taking plants: anisohydricbehavior as a stress- resistance trait. Plan Signaling & Behaviour 7(7): 767-770, 2012.

SAFFORD H.D. Brazilian Páramos I. An introduction to the physical environment and vegetation of campos de altitude. Journal of Biogeography 26:693-712, 1999a.

SAFFORD H.D. Brazilian Páramos II. Macro-and mesoclimate of the campos de altitude and affinities with high mountain climates of the tropical Andes and Costa Rica. Journal of Biogeography 26:713-737, 1999b.

SAGE R.F. & KUBIEN D.S. The temperature response of C3 and C4 photosynthesis. Plant, Cell & Environment 30(9):1086-1106, 2007.

SAKAI A. & LARCHER W. Frost Survival of Plants, Responses and adaptation to freezing stress. Editora Springer, 1ª Edição, 1987.

SASTRY, A., & BARUA, D. Leaf thermotolerance in tropical trees from a seasonally dry climate varies along the slow-fast resource acquisition spectrum. Scientific reports, *7*(1): 11246, 2017.

SCARANO F.R., DUARTE H.M., RIBEIRO K.T., RODRIGUES P.J.F.P. & BARCELLOS E.M.B. Four sites with contrasting environmental stress in southeastern Brazil: relations of species, life form diversity, and geographic distribution to ecophysiological parameters. Botanical Journal of the Linnean Society, 136: 345–364, 2001.

SCARANO F.R. Rock outcrop vegetation in Brazil: a brief overview. Revista Brasileira de Botânica 30(4):561-568, 2007.

SCHULZE E.D., HALL A.E., Stomatal responses, water loss and CO_2 assimilation rates of plants in contrasting environments. Encyclopedia of plant physiology Vol 12, Physiological Plant Ecology II Water Relations and Carbon Assimilation. Editora Springer, 181-232, 1980.

SLOT M., WINTER K. The effects of rising temperature on the ecophysiology of tropical forest trees. Em: Goldstein G, Santiago LS. Tropical tree physiology – adaptations and responses in a changing environment. Editora Springer, 385–412, 2016.

SLOT M., WINTER K. *In situ* temperature response of photosynthesis of 42 tree and liana species in the canopy of two Panamanian lowland tropical forest with contrasting rainfall regimes. New Phytologist, 214: 1103-1117, 2017a.

SLOT M.,WINTER K. Photosynthetic acclimation to warming in tropical forest tree seedlings. Journal of Experimental Botany, 68: 2275-2284, 2017b.

SMITH N.G & DUKES J.S. Plant respiration and photosynthesis in global-scale models:incorporating acclimation to temperature and CO_2. Global Change Biology, 19:45-63, 2013.

TAN Z., ZENG J., ZHANG Y., SLOT M., GAMO M., HIRANO T., KOSUGI Y., DA ROCHA H.R., SALESKA S.R., GOULDEN M. L., WOFSY S. C., MILLER S. D., MANZI A. O., NOBRE D. A., DE CAMARGO P.B., RESTREPO-COUPE N. Optimum air temperature for tropical forest photosynthesis: mechanisms involved and implications for climate warming. Environmental Research Letters 12(5), 2017.

VASCONCELOS M.F. O que são campos rupestres e campos de altitude nos topos de montanha do Leste do Brasil. Revista Brasileira de Botânica, V.34 (2): 241-24, 2011.

VÅRHAMMAR A., WALLIN G., MCLEAN C. M., DUSENGE M.E., MEDLYN B.E., HASPER T.B., NSABIMANA D., UDDLING J. Photosynthetic temperature responses of tree species in Rwanda: evidence of pronounced negative effects of high temperature in montane rainforest climax species. New Phytologist 206(3), 2015.

VIEWEG G.H., ZIEGLER H. Zur Physiologie von Myrothamnus flabellifolia. Berichte Deutschen Botanischen Gesellschaft 82:29-36, 1969.

VITARELLI N.C., RIINA R., CASSINO M.F., MEIRA R.M. S. A. Trichome-lie emergences in Croton of Brazilian highland rock outcrop: Evidences for atmospheric water uptake. Perspective in Plant Ecology, Evolution and Systematics 22:23-35, 2016.

VON CAEMMERER S., EVANS J.R. Temperature responses of mesophyll conductance differ greatly between species. Plant, Cell & Environment 38(4), 629-637, 2015.

WALTHER G. Plants in a warmer world. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics 6 (3):169-185, 2003.

WAY D.A., YAMORI W. Thermal acclimation of photosynthesis: on the importance of adjusting our definitions and accounting for thermal acclimation of respiration. Photosynthesis Research 119(1-2):89-100, 2014.

WAY D. A., OREN R., & KRONER Y. The space-time continuum: the effects of elevated CO2 and temperature on trees and the importance of scaling. Plant, Cell & Environment 39(6):991-1007, 2015.

WISE R.R., OLSON A. J., SCHRANDER S.M., SHARKEY T.D. Electron transport is the functional limitation of photosynthesis in field-grown Pima cotton plants at high temperature. Plant, Cell & Environment 27(6):717-724, 2004.

WU Z., DIJKSTRA P., KOCH G.W., PEÑUELAS J., HUNGATE B. A. Responses of terrestrial ecosystems to temperature and precipitation change: a meta-analysis of experimental manipulation. Global Change Biology 17(2):927-942, 2011.

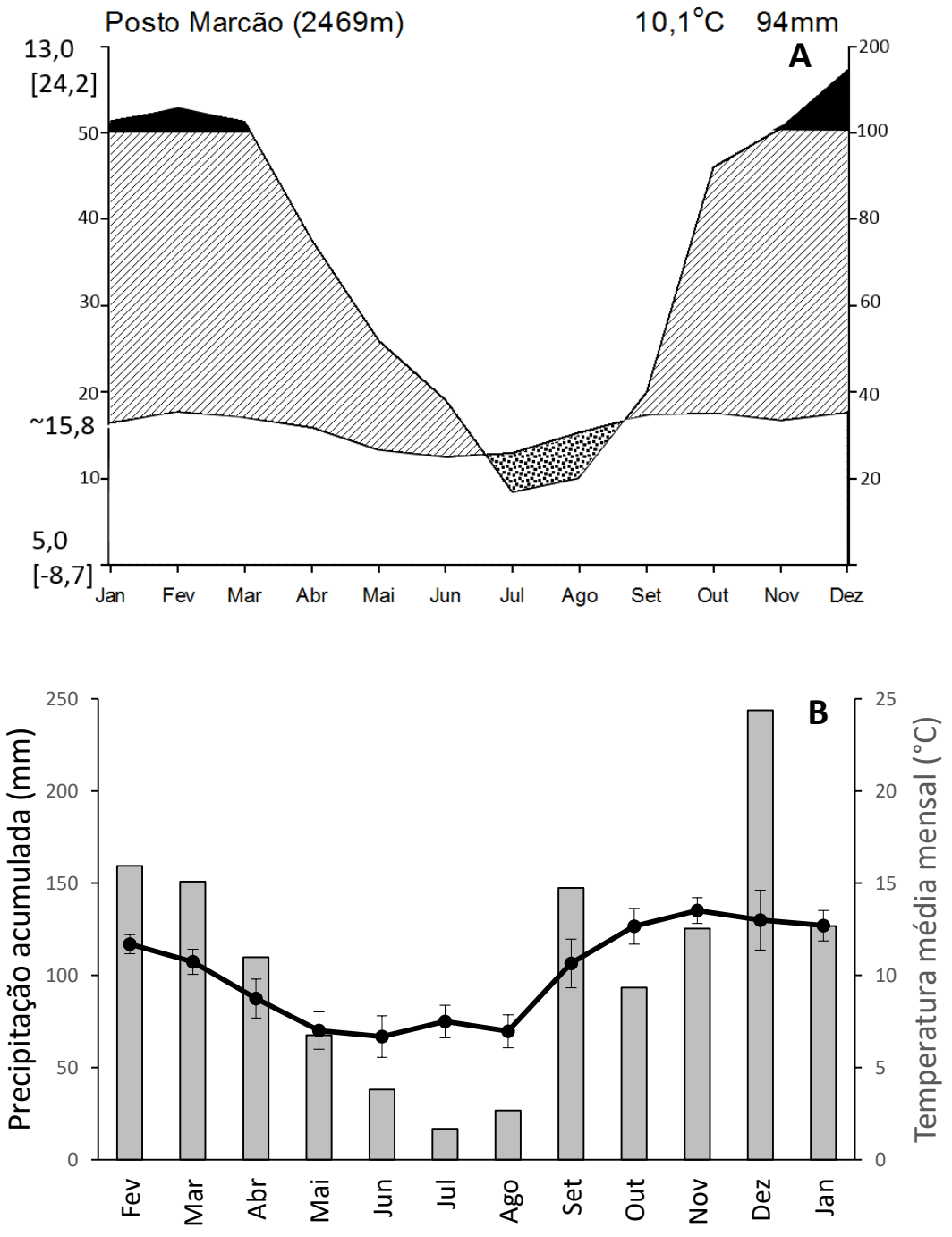
YAMORI W., NOGUCHI K., HIKOSAKA K., TERASHIMA I. Phenotypic plasticity in photosynthetic temperature acclimation among crop species with different cold tolerances. Plant Physiology 152:388-399, 2010.

YAMORI W., HIKISAKA K., WAY D. A. Temperature response of photosynthesis in C3, C4 and CAM plants: temperature acclimation and temperature adaptation. Photosynthesis Research 119:101-117, 2014.

ZIEGLER H., VIEWEG G.H. Poikilohydre Pteridophyta (Farngewachse), Poikilohydre Spermatophyta (Samenpflanzen). Die Hydratation und Hydratur des Protoplasmas der Pflanzen und ihre okophysiologische Bedeutung. Protoplasmatologia, 2:88-108, 1970.

ZHANG T., ZHAO X., WANG W., PAN Y., HUANG L., LIU X., ZONG Y., ZHU L., YANG D., FU B. Comparative transcriptome profiling of chilling stress responsiveness in two contrasting rice genotypes. PLoS ONE 7(8): e43274, 2012.

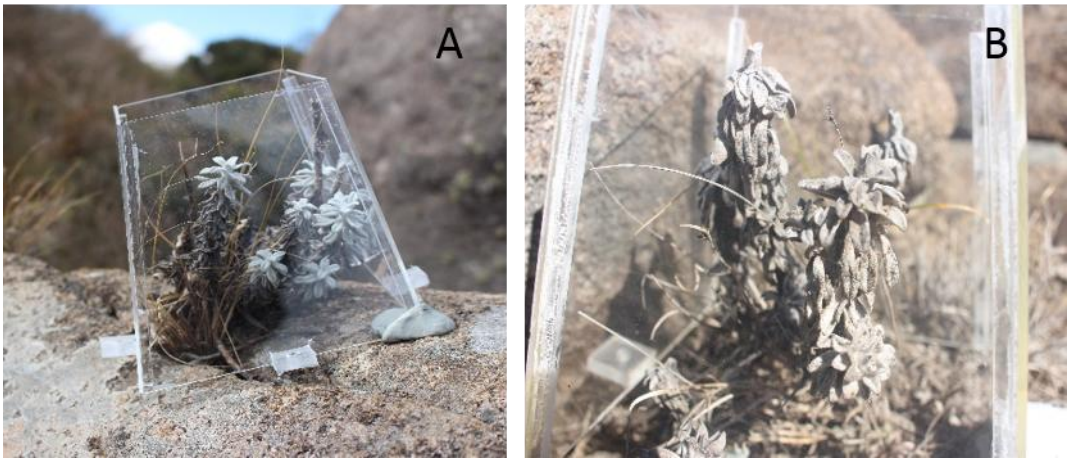
APÊNDICE A - Dados climatológicos do Alto Itatiaia, Serra da Mantiqueira Brasil.



Legenda: **A**. Climodiagrama construído com linha de temperatura representanto a máxima obtida para os meses, deste modo, evidenciando a possibilidade de ocorrência de déficit hídrico no balanço do ambiente. Os dados foram obtidos em http://www.wunderground.com em Fev/2018 e são referentes à estação metereológica do Parque Nacional do Itatiaia - Posto Marcão. O intervalo de tempo amostrado vai de Fevereiro de 2015 a Janeiro de 2017. **B**. Precipitação e pluviosidade para o Alto Itatitia. Os dados-fonte foram os mesmos utilizados para o climodiagrama, e esta imagem se propõe a ser um referencial para a comparação.

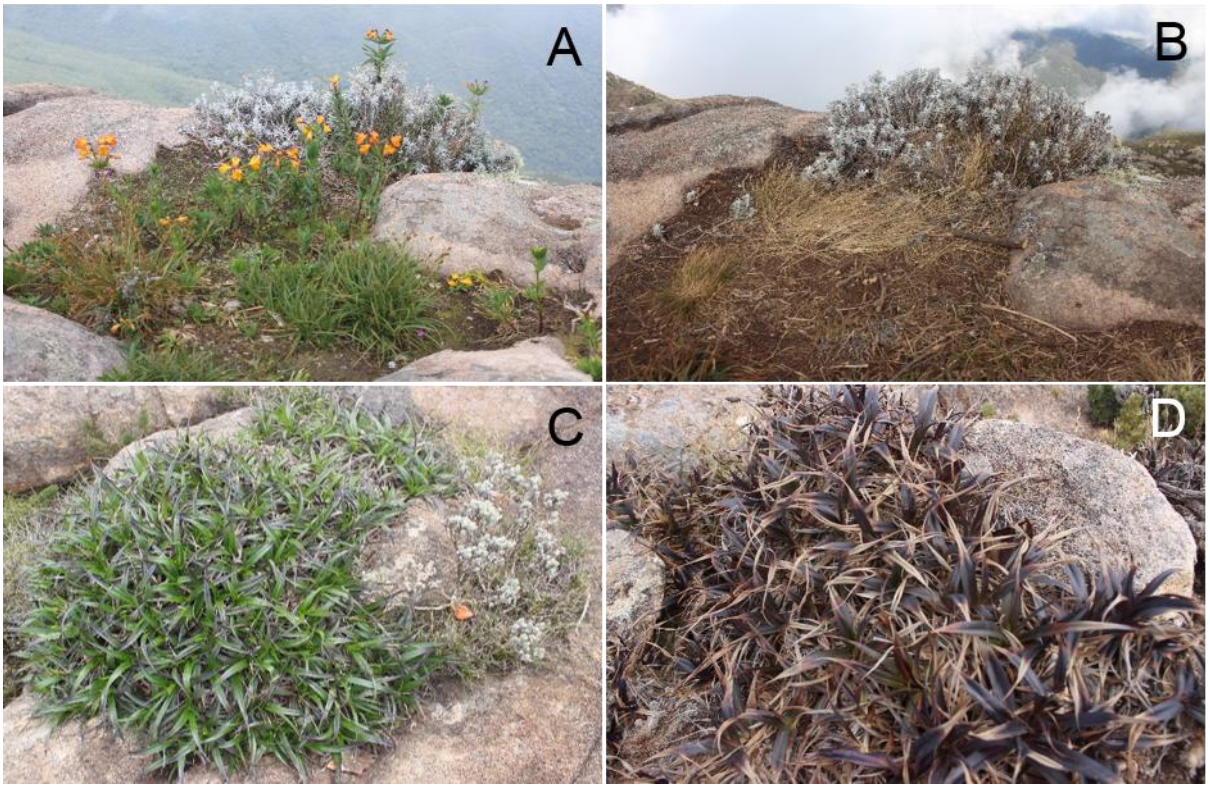
Fonte: O autor, 2018.

APÊNDICE B - Câmaras de topo aberto acoplada sobre *Chionolaena isabellae* no afloramento rochoso do Couto, Alto Itatiaia, Serra da Mantiqueira Brasil.



Legenda: **A**. *C. isabellae* em mostrando aparente vigor. **B**. *C. isabellae* mostrando infestação por fungos, o que ocorreu com mais frequência nos indivíduos dentro das câmaras experimentais quando comparados a indivíduos sem câmara.
Fonte: O autor, 2018.

APÊNDICE C - Efeito da sazonalidade na flora rupícola do Alto Itatiaia, Serra da Mantiqueira, Brasil.



Legenda: **A** e **B.** Ilha de vegetação no afloramento rochoso do Couto durante o verão (esquerda) e o inverno (direita), evidenciando a flutuação em diversidade de plantas que apresentam parte aérea perene. **C** e **D.** Moita de *Barbacenia gounelleana* evidenciando a diferença na concentração de pigmentos foliares entre o verão (esquerda) e o inverno (direita). A fotografia foram feitas no ano de 2017.

Fonte: O autor, 2018.