

Projeto de Pesquisa

Influência das oscilações climáticas do Quaternário na história biogeográfica da Mata Atlântica: Uma interpretação a partir de análises filogeográficas de *Lepismium cruciforme* (Vell.) Miq. (CACTACEAE) ¹

Thiago de Castro Ribeiro ²

RESUMO

O Quaternário é marcado por grandes pulsações climáticas, com longos intervalos de tempo geológico sob regime glacial intercalados com curtos períodos mais quentes, onde grandes transformações na paleovegetação se deram em consequência dessas oscilações climáticas. Existem fortes evidências de que os padrões de distribuição da diversidade existente na Mata Atlântica atual podem ser explicados, em grande parte, pelas alterações climáticas ocorridas durante esse período. Ainda assim, existem muitas lacunas e divergências na literatura quanto aos padrões de ocupação que essas vegetações desenvolveram durante essas mudanças ambientais. Através da utilização de uma espécie de cacto epifítico (*L. cruciforme*) – com distribuição restrita, no Brasil, à Mata Atlântica – como modelo para estudos filogenéticos, realizaremos análises de diversidade genética intraespecífica entre as populações, delimitando linhagens evolutivas e inferindo tempos de divergência entre as linhagens, para trazer respostas mais consistentes sobre como essas formações florestais responderam às variações climáticas do Quaternário.

Palavras-chave: Glaciações, refúgios, fragmentação

¹ Orientador: Fábio Pinheiro, Departamento de Botânica, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Biologia Vegetal), UNESP-Rio Claro

² Mestrando em Biologia Vegetal: Thiago de Castro Ribeiro

INTRODUÇÃO

O Quaternário é um período marcado por grandes pulsações climáticas, com longos intervalos de tempo geológico sob regime glacial intercalados com curtos períodos mais quentes (SALGADO-LABOURIAU, 1994), onde grandes transformações na paleovegetação se deram em consequência dessas oscilações climáticas. Essas mudanças são evidenciadas em muitos estudos em escala global (DENTON et al., 1989; KOCH & BARNOSKY, 2006), envolvendo diferentes táxons (DAVIS & SHAW, 2001), trabalhos restritos aos Neotrópicos (GENTRY, 1982; PENNINGTON, 2000), ao continente sul-americano (VAN DER HAMMEN, 1974) e ao Brasil (LEDRU, 1996; BEHLING, 1998; BEHLING & NEGRELLE, 2001).

Jojima 2014, afirma a existência de fortes evidências de que os padrões de distribuição da diversidade existente na Mata Atlântica atual podem ser explicados, em grande parte, por essas alterações climáticas ocorridas durante o Quaternário. No entanto, apesar de um aumento nos esforços de investigação nos últimos anos, o conhecimento sobre a história evolutiva da Mata Atlântica ainda é limitada. Os poucos estudos filogeográficos em plantas têm mostrado descontinuidades genéticas na parte central da Mata Atlântica – região entre o sul do Espírito Santo e Norte do Rio de Janeiro (RAMOS et al., 2009; RIBEIRO, 2010), apontando que esse bioma possui uma história complexa e que resultou em grandes linhagens divergentes (RIBEIRO, 2010).

Grande parte da discussão concentrada no postulado dos períodos secos na América do Sul durante o Pleistoceno está focada nas consequências das contrações das florestas úmidas, e pouca atenção tem sido dada a influência dessas mudanças climáticas na expansão de vegetações semidecíduais e

deciduais da região (PRADO & GIBBS, 1993). Ainda assim, existem muitas lacunas e divergências na literatura quanto aos padrões de ocupação que essas vegetações desenvolveram durante essas mudanças ambientais.

Prado & Gibbs 1993, apontam que numerosas espécies lenhosas, que estariam envolvidas nos ciclos migratórios de expansão-retração do Pleistoceno, compõem hoje diversas comunidades tropicais e sub-tropicais de florestas decíduas na América do Sul, como as Caatingas do nordeste brasileiro e muitas florestas semi-deciduais nos estados de São Paulo e Paraná. Eles apontam para três núcleos de distribuição dessas espécies (Caatinga – no nordeste brasileiro, a região que faz fronteira entre Brasil-Bolívia e o sudoeste da Bolívia / noroeste da Argentina) e sugerem um padrão residual de uma formação sazonal pleistocênica em arco.

Outro fenômeno, pouco explorado, que faz contraponto à frente seca é o da influência da maritimidade sob a distribuição dessas formações vegetais. Denominado de gradiente oceânico-continental (The oceanic- continental gradiente) por Stewart et al. 2010, esse padrão demonstra evidências filogeográficas (FERMÁNDEZ-MAZUECOS & VARGAS, 2013; PRINZ et al. 2013) de que populações localizadas próximas ao litoral sofreram menos com os eventos de flutuação climática do que populações localizadas no interior do continente. Esse ambiente, por estar sob forte influência das correntes marinhas, possui menores oscilações climáticas e exercem menor pressão sobre as populações residentes, mantendo maiores níveis de diversidade genética. Diversidade essa, que tende a ser reduzida enquanto nos afastamos da linha da costa.

Através de análises moleculares baseadas em variações nas sequências de genes, a filogeografia vem procurando interpretar a extensão e a forma pela qual os processos históricos, relacionados à demografia populacional, podem ter deixado pegadas evolutivas nas distribuições geográficas contemporâneas (AVISE, 2000). Esses estudos têm sido utilizados para investigar os efeitos das mudanças climáticas passadas sobre a estrutura genética de espécies animais e vegetais, permitindo assim, fazer inferências sobre a evolução das espécies dentro de seus biomas e ajudando no planejamento estratégico de conservação (RAMOS et al., 2007).

As epífitas apresentam estrita dependência mecânica da comunidade arbórea para seu estabelecimento e são diretamente afetadas pelas transformações pelas quais as florestas são submetidas (DIAS, 2009). Estudos combinando dados filogenéticos, preferências por habitat, diversidade morfológica e biogeografia de epífitas, além de necessários a fim de compreender melhor os processos envolvidos na evolução destes (CALVENTE et al., 2011), podem servir como modelo para trazer respostas mais consistentes sobre como formações florestais (como a Mata Atlântica) responderam às variações ambientais de climas passados.

JUSTIFICATIVA

Os períodos de pulsação climática do Quaternário estão no centro dos debates atuais e cada vez mais busca-se entender as respostas fitogeográficas dos biomas brasileiros (bem como do Neotrópico) a essas oscilações. Ainda assim, existem muitas lacunas e divergências na literatura quanto aos padrões de ocupação que essas vegetações desenvolveram durante essas mudanças ambientais.

Trabalhos filogeográficos que relacionam eventos climáticos passados para entender os padrões atuais de distribuição das espécies são escassos e tem sido utilizados para testar hipóteses para interpretar possíveis refúgios diante do avanço de frentes secas durante o Pleistoceno.

A utilização de uma espécie de cacto epífita (*L. cruciforme*) com distribuição restrita à Mata Atlântica (ZAPPI et al., 2010) e abundante registro/coleta (specieslink) demonstra ser um ótimo modelo para estudos filogenéticos. Por se tratar de uma espécie com hábito predominantemente florestal e de ampla distribuição pelo bioma, análises de diversidade genética intraespecífica entre as populações, delimitando linhagens evolutivas e inferindo tempos de divergência entre as linhagens, podem trazer respostas consistentes sobre como as formações florestais responderam à essas oscilações de períodos mais frios e secos.

OBJETIVOS

Este trabalho procura compreender melhor os efeitos das oscilações climáticas do Quaternário nos padrões de distribuição dos biomas brasileiros utilizando cactáceas epifíticas. Os objetivos específicos são:

1. Descrever como a diversidade genética está estruturada na espécie, delimitando linhagens evolutivas e inferindo tempos de divergência entre linhagens;

2. Compreender a história evolutiva da espécie *Lepismium cruciforme* (Vell.) Miq., usando-a como modelo para relacionar os efeitos das oscilações climáticas do Quaternário nos padrões de distribuição Mata Atlântica, realizando inferências sobre a história demográfica das linhagens evolutivas identificadas

e testando as hipóteses do Arco Pleistocênico e do Gradiente Oceânico-continental.

MATERIAL E MÉTODOS

Modelo de Estudo

Lepismium representa um dos quatro gêneros pertencentes à Rhipsalideae. Popularmente conhecido como canambaia ou rabo-de-rato – na região sul do país, *Lepismium cruciforme* (Vellozo) Miquel, Bull. Sci. Phys. Néerl 1: 49 (1838) tem sua distribuição entre Paraguai, Argentina e Brasil. Neste último, pode ser encontrada nos estados de Pernambuco, Bahia, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul (BARTHLOTT & TAYLOR, 1995; ZAPPI et al., 2010). Adapta-se a diferentes níveis de luminosidade, apresentando alterações fisiológicas como caule avermelhado e maior pilosidade nas aréolas quando exposta em excesso a esse fator ambiental. Sua floração pode ser registrada principalmente nos meses de outubro a janeiro, com frutificação ocorrendo no mesmo período (BRUXEL & JASPER, 2005).

Amostragem

Serão realizadas viagens de coleta para obtenção de material biológico em 12 localidades ao longo de remanescentes florestais da Mata Atlântica no estado do Paraná (Tabela 1). Serão priorizadas as localidades que já apresentam registros de ocorrência da espécie de estudo, porém algumas serão exploradas a fim de expandir nosso conhecimento sobre a atual distribuição dessas populações.

Tabela 1. Unidades de Conservação do Estado do Paraná e seus respectivos registros de coleta segundo o banco de dados Specieslink.

Unidade	Município/Núcleo	Coletor	Data da Coleta
ESTAÇÕES ECOLÓGICAS			
Caiuá	Diamante do Norte	M.B. Romagnolo	20/09/2011
RESERVA FLORESTAL			
Parque do Ingá	Maringá	A.C. Secorun	24/09/2007
RESERVA BIOLÓGICA			
Perobas - Pinheiral	Tuneiras do Oeste	M.G. Caxambu	25/10/2010
PARQUES ESTADUAIS			
Vila Velha	Ponta Grossa	A. Soller	15/07/2011
PARQUES NACIONAIS			
Iguaçu	Foz do Iguaçu	P.H. Labiak	03/10/2006
RPPN			
Vila Rica - Bernard	Fênix	E.L. Siqueira	23/01/2015
Fazenda do Durgo	São Mateus do Sul	R.M. Britez	20/10/1986
OUTRAS			
Centro Politécnico	Curitiba	L.A. Acra	24/04/1986
Jardim Botânico	Curitiba	J. Meirelles	04/09/2009
Salto João Nogueira	São Jerônimo da Serra	V.F. Kinupp; C. Medri	22/02/1999
Parque Municipal do Lago	Campo Mourão	E.G. Paulino	21/09/2004
Margem Rio Tibagi	Telêmaco Borba	M.A. Milaneze-Gutierre	23/10/2013

Extração de material genético, obtenção e seleção de marcadores moleculares

Fragmentos de cladódios serão coletados e preservados em sílica-gel para serem desidratados até que sejam realizadas as extrações de DNA. Adicionalmente, utilizaremos trechos ITS e rpl32-trnL obtidas no GenBank para o alinhamento das sequências.

A extração do DNA genômico seguirá o protocolo de Doyle e Doyle, 1987. A amplificação da região ITS do nrDNA utilizará *primers* ITS17SE e ITS26SE, enquanto que para rpl32-trnL usaremos rpl32 e trnL-UAG. Finalmente, as PCRs seguirão os procedimentos adotados por Ornelas e Rodríguez-Gómez, 2015.

Todas as análises serão realizadas no Laboratório de Ecologia Molecular – Departamento de Ecologia da UNESP – Rio Claro e todas as sequencias utilizadas nesse estudo serão disponibilizadas no GenBank.

EQUIPE EXECUTORA E RESPECTIVA INSTITUIÇÃO FILIADORA

- Thiago de Castro Ribeiro, bolsista CNPq (projeto: 830818/1999-5) de mestrado em Biologia Vegetal, Departamento de Botânica do Instituto de Biociências de Rio Claro – UNESP;
- Dr. Fábio Pinheiro, bolsista de pós-doutorado, Departamento de Botânica do Instituto de Biociências de Rio Claro – UNESP;
- Dra. Clarisse Palma da Silva, pesquisadora, Depto. de Ecologia do Instituto de Biociências de Rio Claro – UNESP;

CRONOGRAMA

Atividades	Set-Dez 2015	Jan-Abr 2016	Mai-Ago 2016	Set-Dez 2016	Jan-Abri 2017	Mai-Ago 2017
Elaboração do projeto de pesquisa						
Coletas de campo e análises lab.						
Organização e análise dos dados						
Redação de relatórios e manuscritos						
Participação em congressos						
Redação de manuscritos e dissert.						
Defesa de dissertação						

REFERENCIAS

- AVISE, J. C. 2000. Phylogeography: The History and Formation of Species Harvard University Press. Massachusetts, Cambridge.
- BARTHLOTT, W. & TAYLOR, N. P. 1995. Notes towards a monograph of Rhipsalideae (Cactaceae). - Bradleya 13: 43-79.

- BEHLING, H. 1998. Late Quaternary vegetational and climatic changes in Brazil. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 99(2), 143–156. [http://doi.org/10.1016/S0034-6667\(97\)00044-4](http://doi.org/10.1016/S0034-6667(97)00044-4)
- BEHLING, H. & NEGRELLE, R. R. B. 2001. Tropical rain forest and climate dynamics of the Atlantic lowland, southern Brazil, during the Late Quaternary. *Quaternary Research*, 56, 383–389. <http://doi.org/10.1006/qres.2001.2264>
- BRUXEL, J. & JASPER, A. 2005. A família Cactaceae na Bacia Hidrográfica do Rio Taquari, RS, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 19(1), 71–79. <http://doi.org/10.1590/S0102-33062005000100008>
- CALVENTE, A., ZAPPI, D. C., FOREST, F. & LOHMANN, L. G. 2011. Molecular Phylogeny, Evolution, and Biogeography of South American Epiphytic Cacti. *International Journal of Plant Sciences*, 172(7), 902–914. <http://doi.org/10.1086/660881>
- DAVIS, M. B. & SHAW, R. G. 2001. Range shifts and adaptive responses to Quaternary climate change. *Science (New York, N.Y.)*, 292(5517), 673–679. <http://doi.org/10.1126/science.292.5517.673>
- DIAS, A. D. S. 2009. Ecologia de epífitas vasculares em uma área de Mata Atlântica do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, RJ.
- DENTON, G. H., BOCKHEIM, J. G., WILSON, S. C. & STUIVER, M. 1989. Late Wisconsin and early Holocene glacial history, inner Ross Embayment, Antarctica. *Quaternary Research*, 31(2), 151–182. [http://doi.org/10.1016/0033-5894\(89\)90004-5](http://doi.org/10.1016/0033-5894(89)90004-5)
- FERNÁNDEZ-MAZUECOS, M. & VARGAS, P. 2013. Congruence between distribution modelling and phylogeographical analyses reveals Quaternary survival of a toadflax species (*Linaria elegans*) in oceanic climate areas of a mountain ring range. *New Phytologist* 198: 1274-1289.

- JOJIMA, C. L. 2014. Filogeografia de *Cereus fernambucensis* (CACTACEAE, CEREEAE) inferida por marcadores moleculares. Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Diversidade Biológica e Conservação, Universidade Federal de São Carlos, Campus de Sorocaba, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre.
- KOCH, P. L. & BARNOSKY, A. D. 2006. Late Quaternary Extinctions : State of the Debate, 215–252.
<http://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132415>
- LEDRU, M. P., SOARES BRAGA, P. I., SOUBIÈS, F., FOURNIER, M., MARTIN, L., SUGUIO, K. & TURCQ, B. 1996. The last 50,000 years in the Neotropics (Southern Brazil): Evolution of vegetation and climate. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 123(1-4), 239–257.
[http://doi.org/10.1016/0031-0182\(96\)00105-8](http://doi.org/10.1016/0031-0182(96)00105-8)
- ORNELAS, J. & RODRÍGUEZ-GÓMEZ, F. 2015. Influence of Pleistocene Glacial / Interglacial Cycles on the Genetic Structure of the Mistletoe Cactus *Rhipsalis baccifera* (Cactaceae) in Mesoamerica, 106(2), 196–210.
<http://doi.org/10.1093/jhered/esu113>
- PENNINGTON, R. T., PRADO, D. E. & PENDRY, C. A. 2000. Neotropical seasonally dry forests and Quaternary vegetation changes. *Journal of Biogeography*, 27(2), 261–273. <http://doi.org/10.1046/j.1365-2699.2000.00397.x>
- PRADO, D. E. & GIBBS, P. E. 1993. Patterns of Species Distributions in the Dry Seasonal Forests of South America. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 80(4), 902–927. Retrieved from <http://www.jstor.org/stable/2399937>
- PRINZ K., WEISING K. & HENSEN, I. 2013. Habitat fragmentation and recent bottlenecks influence genetic diversity and differentiation of the Central European halophyte *Suaeda maritima* (Chenopodiaceae). *American Journal of Botany* 100: 2210-2218

- RAMOS, A.C.S., LEMOS-FILHO, J.P., RIBEIRO, R.A., SANTOS, F.R. & LOVATO, M.B. 2007. Phylogeography of the tree *Hymenaea stigonocarpa* (Fabaceae: Caesalpinioideae) and the influence of Quaternary climate changes in the Brazilian Cerrado. *Annals of Botany*, 100, 1219–1228.
- RAMOS, A. C. S., LEMOS-FILHO, J. P., LOVATO, M. B. 2009. Phylogeographical structure of the neotropical forest tree *Hymenaea courbaril* (Leguminosae: Caesalpinioideae) and its relationship with the vicariant *Hymenaea stigonocarpa* from Cerrado. *J Hered* 100: 206–216.
- RIBEIRO, R. a., LEMOS-FILHO, J. P., RAMOS, A. C. S. & LOVATO, M. B. 2010. Phylogeography of the endangered rosewood *Dalbergia nigra* (Fabaceae): insights into the evolutionary history and conservation of the Brazilian Atlantic Forest. *Heredity*, 106(1), 46–57. <http://doi.org/10.1038/hdy.2010.64>
- STEWART, J. R., LISTER, A. M., BARNES, I., DALÉN, L. 2010. Refugia revisited: individualistic responses of species in space and time. *Proceedings of the Royal Society of London Series B*, 277, 661–671.
- VAN DER HAMMEN, T. 1974. The Pleistocene Changes of vegetation The Pleistocene changes in tropical South America and climate. *Journal of Biogeography*, 1(1), 3–26.
- ZAPPI, D. C., TAYLOR, N. P. & MACHADO, M. C. 2010. Cactaceae. In: *Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil*, Jardim Botânico do Rio de Janeiro, vol., 1: 822 – 832.