

**ABORDAGEM INTEGRATIVA DE ATRIBUTOS FUNCIONAIS DE PLANTAS
NA MATA ATLÂNTICA EM DIFERENTES NÍVEIS ORGANIZACIONAIS**

DHIEGO DA SILVA OLIVEIRA

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Campos dos Goytacazes, RJ

Agosto 2023

**ABORDAGEM INTEGRATIVA DE ATRIBUTOS FUNCIONAIS DE PLANTAS
NA MATA ATLÂNTICA EM DIFERENTES NÍVEIS ORGANIZACIONAIS**

DHIEGO DA SILVA OLIVEIRA

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Biociências e Biotecnologia.

Orientadora: Dra. Maura Da Cunha

Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro

Campos dos Goytacazes, RJ

Agosto 2023

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

O48

Oliveira, Dhiego da Silva.

"ABORDAGEM INTEGRATIVA DE ATRIBUTOS FUNCIONAIS DE PLANTAS NA MATA ATLÂNTICA EM DIFERENTES NÍVEIS ORGANIZACIONAIS". / Dhiego da Silva Oliveira. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2023.

142 f. : il.

Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Biociências e Biotecnologia) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Biociências e Biotecnologia, 2023.

Orientadora: Maura da Cunha.

1. Restinga. 2. Variações ambientais. 3. Atributos funcionais foliares. 4. Plasticidade e integração fenotípica. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 570

**ABORDAGEM INTEGRATIVA DE ATRIBUTOS FUNCIONAIS DE PLANTAS
NA MATA ATLÂNTICA EM DIFERENTES NÍVEIS ORGANIZACIONAIS**

DHIEGO DA SILVA OLIVEIRA

Tese de Doutorado apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Biociências e Biotecnologia.

Comissão Examinadora:

Dra. Cláudia Franca Barros – JBRJ

Dr. Fábio Lopes Olivares – UENF

Dra. Laís de Almeida Bezerra – UENF

Dra. Maura Da Cunha – UENF (Orientadora)

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia Celular e Tecidual no setor de Biologia Vegetal do Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, sob orientação da Dra. Maura Da Cunha, com financiamento de apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e da Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e bolsa de doutorado concedida pela CAPES.

“Dedico esta obra ao Nosso Senhor Jesus Cristo pela força nos momentos de dificuldade, pela alegria nos momentos de felicidade, pela dor nos momentos que fogem do nosso controle e por todos os dias de nossa vida nos fazer lembrar, de que não somos nada sem ti...”

À Maria Isabel Titoneli Pacheco, ao Prof.º Flávio Miguens e a Cris Tulli

in memoriam...

Tudo que vem de Deus deixa a alma tranquila, mesmo diante das aflições e contradições...

São Padre Pio de Pietrelcina

Agradecimentos

Ao Deus todo poderoso pelo dom maravilhoso da vida, por estar do meu lado nos momentos de dificuldade, ser meu apoio e minha segurança em tudo que somos e temos.

A minha esposa Patrícia e meu filho Bento, por todos os momentos maravilhosos que vivemos juntos, mesmo nas dificuldades e tribulações, vocês sempre foram meu sustento.

Aos meus pais, Sebastião e Maria José, por me ensinar o verdadeiro valor da vida e sempre me ajudar nos momentos difíceis.

Ao meu irmão Gabriel, por todo companheirismo, todas as conversas e os momentos de partilha que obtivemos juntos.

A minha orientadora Maura Da Cunha, que sempre acreditou e confiou em mim, abrindo as portas do seu laboratório para a realização deste trabalho.

Agradeço a todos os colaboradores do trabalho, sem vocês eu não teria conseguido. De forma especial e carinhosa, a Priscila Simioni, por ter aceitado me orientar em uma situação tão difícil, a Igor Araújo, por todas as dicas e conversas científicas, e o Saulo Pireda pela ajuda na idealização do trabalho e no ensino de muitas coisas relacionadas ao laboratório.

Agradeço aos meus amigos de CEDERJ e de moradia, Neilor Borges, Gabriel Amaral, Letícia Lanes e Geliane Araújo por todas as brincadeiras, partilhas e os muitos anos de amizade. E ao Luiz Mazorra, por compartilhar as experiências vividas aqui no Brasil e fora dele. De forma especial, gostaria de agradecer ao Marcos José, Sérgio Rodrigo e Rogerio Rabelo pela experiência de morar junto com vocês, foram tempos muito bons e alegres, principalmente quando eu me encontrava triste e preocupado.

Agradecer também a todos os irmãos do GOU, por toda a acolhida, momentos de partilha, de resenha e de alegria. Vocês foram muito importantes nesta caminhada, nunca desistam, pois, Deus tem algo maravilhoso para cada um de nós!!!

A todo grupo da professora Maura: Camilla Ribeiro, Glaziele Campbell, Guilherme Rabelo, João Victor Castelar, Fernanda Trindade, Jonas Brito, Vanessa Xavier, Renata Pegoral, Warlen Costa, Kathlyn Gevu, Rodrigo Feitoza e Marcela Rezende, por me acolherem com carinho no laboratório. E a todos os alunos mais novos que eu não tive tanto contato, vocês são dez.

Aos membros da banca: Dra. Cláudia Franca Barros, Dr. Fábio Lopes Olivares e Dra. Laís de Almeida Bezerra, por contribuírem com seus conhecimentos e experiências para a realização desta tese.

Aos técnicos e funcionários do LBCT: Beatriz, Giovanna e Adrianinha, por todas as conversas e troca de experiências.

Aos professores Fabio Lopes Olivares, Renato DaMatta, Clovis de Paula, Edésio Tenório, Arnaldo Façanha, Claudete Santa-Catarina, Valdirene Moreira e todos os outros professores que não tive tanto contato, obrigado por todo conhecimento transferido ao longo dessa caminhada.

A chefia do LBCT, na figura do professor Renato DaMatta por proporcionar as condições necessárias para o desenvolvimento desta tese, por todas as chamadas de atenção e partilhas.

Ao coordenador do Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia Dr. Arnaldo Façanha e as funcionárias Beatriz e Marlene, pela solicitude e carinho no nosso atendimento.

Ao Instituto Nacional de Estudos Ambientais (INEA) pela oportunidade de realizar minha pesquisa.

A todo o pessoal da RPPN Fazenda Caruara, na pessoa do Leandro, pela solicitude nas coletas, por toda troca de informação e atenção em todos os sentidos.

Ao nosso amigo Hérick, que trabalhou na identificação das espécies conosco, por todas as dicas de um olhar diferenciado para os nossos indivíduos e espécies.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Agradeço de coração a todos que me esqueci de mencionar que de uma forma ou de outra, contribuíram para a realização do presente trabalho. Deus abençoe abundantemente a todos!!!

“Nossa vida é um presente de Deus, e o que fazemos dela é o nosso presente a Ele.”

São João Bosco

Lista de Figuras

Figura 1: Mapa da distribuição das fitofisionomias da Mata Atlântica.....	23
Figura 2: Distribuição de remanescentes da Mata Atlântica para o estado do Rio de Janeiro.....	24
Figura 3: Esquema da distribuição das formações vegetacionais das restingas do Norte Fluminense – RJ.....	26
Figura 4: Correlação positiva entre plasticidade e integração fenotípica independente das variáveis ambientais.....	31
Capítulo 1:	
Fig 1: Sandbank vegetation types in Rio de Janeiro, Brazil, South American.....	41
Fig 2: Microclimatic differences of the species in the sandbank vegetation types.....	45
Fig 3: Similarity dendrogram (UPGMA) between 12 species of different vegetation types of sandbank, generated by a matrix of presence and absence of anatomical characteristics.....	53
Fig 4: Anatomical images of species in the sandbank vegetation types.....	54
Fig 5: Leaf morphological and anatomical attributes of species in the sandbank vegetation types.	56
Fig 6: Source of variation of leaf characteristics in the sandbank vegetation types.....	57
Fig S1: Paradermic sections and micromorphological images of the species in the sandbank vegetation types.....	80
Fig S2: Transversal sections of the leaf blade of the species in the sandbank vegetation types.....	82
Fig S3: Transversal sections of the midrib and petiole of the species in the sandbank vegetation types.....	84
Capítulo 2:	

Figura 1: Micromorfologia das espécies <i>E. uniflora</i> , <i>S. terebinthifolia</i> , <i>P. glabrata</i> e <i>S. arenicola</i> nas formações de mata de restinga, <i>Clusia</i> e praial com moitas.....	105
Figura 2: Anatomia foliar das espécies <i>E. uniflora</i> , <i>S. terebinthifolia</i> , <i>P. glabrata</i> e <i>S. arenicola</i> nas formações de mata de restinga, <i>Clusia</i> e praial com moitas.....	106
Figura 3: Índice de plasticidade de distância relativa calculado individualmente para cada atributo funcionais foliares ($RDPI_{traits}$) e individualmente por espécie ($RDPI_{total}$).....	107
Figura 4: Matrizes de correlação de Pearson para os atributos foliares estruturais e fisiológicos.....	109
Figura 5: Valores médios (\pm desvio padrão) da relação RDPI x PI dos atributos funcionais estruturais e fisiológicos.....	110
Figura 6: Modelos lineares entre RDPI x PI.....	111

Lista de Tabelas

Capítulo 1:

- Tab 1:** Characterization and life habits of the species in the different types of sandbank vegetation.....43
- Tab 2:** Leaf morphological and anatomical attributes evaluated for species in different sandbank vegetation types.....49
- Tab S1:** Presence/absence matrix of leaf attributes in the sandbank vegetation types.....86
- Tab S2:** ANOVA table on the influence of the vegetation (VE) and species (SP) leaf morphological and anatomical characteristics in the sandbank vegetation types.....88
- Tab S3:** Results of the variance decomposition (%) in vegetations and species levels for morphological and anatomical leaf characteristics of trees in sandbank vegetation types.....89

Capítulo 2:

- Tabela 1:** Características microclimáticas e edáficas de três formações vegetacionais de restinga da Mata Atlântica.....96
- Tabela 2:** Valores médios (min – máx) dos atributos foliares estruturais e fisiológicos das espécies *E. uniflora* e *S. terebinthifolia* coocorrentes nas três formações de restinga da Mata Atlântica..... 103
- Tabela 3:** Valores médios (min – máx) dos atributos foliares estruturais e fisiológicos das espécies *P. glabrata* e *S. arenicola* coocorrentes nas três formações de restinga da Mata Atlântica..... 104
- Tabela S1:** Atributos funcionais foliares de árvores coocorrentes em formações vegetacionais de restinga da Mata Atlântica.....127

Tabela S2: Índice de plasticidade de distância relativa (RDPI) dos atributos foliares estruturais e fisiológicos para as espécies coocorrentes em formações vegetacionais de restinga da Mata Atlântica.....128

Tabela S3: Modelos lineares entre a relação de índice de plasticidade de distância relativa (RDPI) e integração fenotípica (PI) nos atributos foliares estruturais e fisiológicas para as árvores coocorrentes em formações vegetacionais de restinga da Mata Atlântica.....128

Lista de Abreviaturas

A: Assimilação de Carbono

ABCT / ADCT: Abaxial and Adaxial Cuticle Thickness – Espessura da Cutícula Abaxial e Adaxial

ABET / ADET: Abaxial and Adaxial Epidermis Thickness – Espessura da Epiderme Abaxial e Adaxial

Al: Alumínio

B: Boro

BS: Saturação de Bases

C: Carbono

Ca: Cálcio

CLGI: Complexo Lagunar de Grussaí e Iquipari

CO₂: Gás Carbônico

CTC: Capacidade de Troca Catiônica

Cu: Cobre

DD: Data Deficient - Dados Deficientes

E: Taxa de Transpiração

EN: Endangered - Ameaçadas de Extinção

Fe: Ferro

Fv/Fm: Rendimento Quântico Máximo do PSII

gs: Condutância Estomática

H+Al: Prótons e Alumínio

IPCC: Painel Intergovernamental de Mudança do Clima da ONU

K: Potássio

LC: Least Concern - Menor Preocupação

LEA: Leaf Area – Área Foliar

LET: Leaf Thickness – Espessura Foliar

LMA: Leaf Mass Area – Massa Foliar por Área

LWMC: Leaf Water Content – Conteúdo de Água da Folha

Mg: Magnésio

Mn: Manganês

N: Nitrogênio

Na: Sódio

NE: Species Not Evaluated - Espécies Não Avaliadas

OM: Matéria Orgânica

P: Fósforo

PAR: Radiação Fotossinteticamente Ativa

pH: Potencial de Hidrogenação

PI: Integração Fenotípica

PPT: Palisade Parenchyma Thickness – Espessura do Parênquima Paliçádico

PSII: Fotossistema II

RDPI: Índice de Plasticidade de Distância Relativa

ROS: Espécies Reativas de Oxigênio

RPPN: Reserva Particular de Patrimônio Natural

SINa: Índice de Saturação de Sódio

SP: Species – Espécie

SPT: Spongy Parenchyma Thickness – Espessura do Parênquima Lacunoso

S-SO₄: Saturação de SO₄

STA: Stomatal Area – Área Estomática

STD: Stomatal Density – Densidade Estomática

V: Índice de saturação de bases

VE: Vegetation – Vegetação

VPD: Vapor Pressure Deficit - Déficit de Pressão de Vapor

VU: Vulnerable – Vulnerável

Y(II): Rendimento Quântico Efetivo do PSII

Zn: Zinco

Sumário

1. Introdução Geral.....	20
2. Fundamentação Teórica	22
2.1 Mata Atlântica	22
2.2 Formações Vegetacionais de Restinga.....	24
2.3 Respostas Estruturais e Fisiológicas Foliaves.....	28
2.4 Plasticidade e Integração Fenotípica.....	30
3. Objetivo Geral	32
3.1 Objetivos Específicos	32
4. Effects of microclimatic variation on plant leaf traits at the community level along a tropical forest gradient	34
4.1 Abstract.....	35
4.2 Introduction	36
4.3 Materials and methods.....	39
4.3.1 Study area	39
4.3.2 Species selection and data collection.....	41
4.3.3 Measurements of microclimatic parameters.....	44
4.3.4 Morphoanatomical characterization	46
4.3.5 Sample preparation for anatomical analysis.....	47
4.3.6 Sample preparation for the micromorphological analysis.....	47
4.3.7 Statistical analysis	47
4.4 Results.....	50
4.4.1 Convergent and divergent leaf characteristics.....	50
4.4.2 Variation in leaf morphoanatomical attributes among vegetation types.....	51
4.4.3 Variability of leaf morphoanatomical characteristics	52
4.5 Discussion.....	58
4.6 Conclusion.....	63
4.7 References	64
4.8 Appendix.....	77
5. Respostas aclimatativas de plantas coocorrentes em formações vegetacionais de uma floresta tropical.....	90
5.1 Resumo	90
5.2 Introdução.....	91
5.3 Materiais e Métodos.....	93
5.3.1 Área de Estudo	93

5.3.2 Seleção das Espécies e Coleta de Dados	95
5.3.3 Medições de Parâmetros Microclimáticos.....	95
5.3.4 Análise Físico-química do Solo	95
5.3.5 Medidas de Atributos Estruturais.....	96
5.3.6 Preparo de Amostras para Micromorfologia	97
5.3.7 Fluorescência da Clorofila a.....	98
5.3.8 Trocas Gasosas	98
5.3.9 Índice de Plasticidade de Distância Relativa (RDPI) e Integração Fenotípica (PI)	98
5.3.10 Análises Estatísticas.....	99
5.4 Resultados.....	100
5.4.1 Variação Intraespecífica dos Atributos Estruturais e Fisiológicos Foliares	100
5.4.2 Plasticidade e Integração Fenotípica.....	107
5.5 Discussão	112
5.6 Conclusão	117
5.7 Referências:	118
5.8 Apêndice	126
6. Discussão Geral.....	129
7. Conclusões Gerais.....	132
8. Referências:	133
9. Anexo: Comprovante de Submissão do Artigo 1	142

Resumo

A relação entre atributos funcionais foliares e mudanças climáticas é desafiadora, especialmente em sistemas de alta biodiversidade, como a Mata Atlântica. Dentre os ecossistemas da Mata Atlântica temos a restinga, um ecossistema instável e suscetível as mudanças climáticas futuras. A compreensão dos atributos funcionais foliares das plantas de restinga ainda é escasso, e pode auxiliar no entendimento dos processos adaptativos. O presente trabalho busca identificar a influência dos atributos funcionais foliares (estruturais e fisiológicos), que permitiram com que as espécies vegetais se aclimassem em diferentes formações vegetacionais de restinga (mata de restinga, formação de *Clusia*, formação praial com moitas e formação praial-graminóide), a fim de compreender melhor o processo de aclimação em ambientes com variações microclimáticas e edáficas. Para isso, foram coletadas folhas de cinco indivíduos de espécies dominantes presentes nas diferentes formações vegetacionais de restinga localizada na RPPN Fazenda Caruara, município de São João da Barra - RJ. Posteriormente, foram utilizados os métodos usuais de anatomia vegetal para observações em microscopia óptica e eletrônica. Além disso, foram realizadas análises fisiológicas de trocas gasosas e emissão de fluorescência da clorofila *a*. A presente tese foi dividida em dois capítulos: Capítulo 1 - Análises morfoanatômicas foliares respondem a variação microclimática em comunidades de plantas na Mata Atlântica e Capítulo 2 - Respostas aclimatativas de plantas coocorrentes em formações vegetacionais de uma floresta tropical. Os resultados do primeiro capítulo indicam similaridade entre as formações vegetacionais de mata de restinga, formação de *Clusia* e praial com moitas, que pode estar relacionada à curta distância entre as comunidades vegetais. A comunidade praial graminóide se separou das demais, visto que as espécies que compõem essa comunidade apresentaram características exclusivas (parênquima aquífero e bainha de Kranz) facilitando o desenvolvimento delas neste ambiente. Os resultados do segundo capítulo evidenciaram um agrupamento aclimatativo na coocorrência das espécies *Schinus terebinthifolia* e *Pera glabrata*, visto que, a maioria dos seus atributos não diferiram entre as formações vegetacionais, investindo em uma combinação de ajustes foliares plásticos e integrados. As espécies coocorrentes *Eugenia uniflora* e *Scutia arenicola* demonstraram ampla variação em seus atributos funcionais entre as formações de restinga, investindo mais em integração do que em plasticidade. Os resultados sugerem que as formações vegetacionais de restinga apresentam ampla similaridade funcional e as comunidades vegetais distantes da maré são sensíveis às altas

temperaturas e secas severas, e assim, provavelmente serão afetadas em decorrência dos eventos climáticos extremos. Os processos de plasticidade e integração fenotípica contribuem para a aclimação funcional das espécies em ambientes contrastantes e podem potencialmente auxiliar nas respostas às mudanças climáticas futuras.

Palavras-chave: Restinga; Variações ambientais; Atributos funcionais foliares; Plasticidade e integração fenotípica.

Abstract

The relationship between leaf functional attributes and climate change is challenging, especially in high biodiversity systems such as the Atlantic Forest. Among the ecosystems of the Atlantic Forest, we have the sandbank, a unstable ecosystem and susceptible to future climate changes. The understanding of the leaf functional attributes of restinga plants is still scarce and can help in the understanding of adaptive processes. The present work seeks to identify the influence of leaf functional attributes (structural and physiological), which allowed the plant species to acclimatize in different vegetation formations of sandbank (sandbank forest, *Clusia* formation, beach grass and shrub formation and beach grass formation), to understand better the acclimatization process in environments with microclimatic and edaphic variations. For this, leaves were collected from five individuals of dominant species present in the different vegetation formations of sandbank located in the RPPN Fazenda Caruara, municipality of São João da Barra - RJ. Subsequently, the usual methods of plant anatomy were used for observations in optical and electronic microscopy. In addition, physiological analyzes of gas exchange and fluorescence emission from chlorophyll a were performed. This thesis was divided into two chapters: Chapter 1 - Morphoanatomical analyzes of leaves respond to microclimatic variation in plant communities in the Atlantic Forest and Chapter 2 - Acclimatative responses of co-occurring plants in vegetational formations of a tropical forest. The results of the first chapter indicate similarity between the vegetation formations of restinga forest, *Clusia* formation and beach grass and shrub formation, which may be related to the short distance between the plant communities. The beach grass community was separated from the others since the species that make up this community had exclusive characteristics (aquiferous parenchyma and Kranz sheath), facilitating their development in this environment. The results of the second chapter showed an acclimatative grouping in the co-occurrence of the species *Schinus terebinthifolia* and *Pera glabrata* since most of their attributes did not differ between vegetation formations, investing in a combination of plastic and integrated leaf adjustments. The co-occurring species *Eugenia uniflora* and *Scutia arenicola* showed wide variation in their functional attributes among restinga formations, investing more in integration than in plasticity. The results suggest that the sandbank vegetation formations present broad functional similarity, and the plant communities far from the tide are sensitive to high temperatures and severe droughts and thus, will probably be affected due

to extreme weather events. The processes of plasticity and phenotypic integration contribute to the functional acclimatization of species in contrasting environments and can help in responses to future climate changes.

Keywords: Sandbank; Environmental variations; Leaf functional attributes; Plasticity and phenotypic integration.

1. Introdução Geral

A Mata Atlântica é considerada um bioma de grande extensão (Murray-Smith et al., 2009). Devido à sua fragmentação florestal, as espécies se tornam mais vulneráveis às mudanças climáticas, pelo fato de os fragmentos florestais estarem sujeitos a processos de savanização e de perda de biodiversidade (Scarano & Ceotto, 2015; Urban, 2015). Este fato vem ocorrendo desde o período colonial e grande parte dessa degradação é atribuída a sua localização, pela sua área se concentrar próximo a grandes centros comerciais (Haddad et al., 2015). Segundo Brito et al. (2021), a Mata Atlântica é bastante heterogênea, englobando um conjunto de mosaicos florestais e formações de ecossistemas associados, que precisam ser preservados desses eventos de fragmentação, onde as restingas tem particular relevância neste contexto.

As restingas são planícies arenosas formadas do resultado de processos geológicos de regressão marinha ocorridas no período Quaternário (Freitas et al., 2017). Sua vegetação é resultante da colonização de plantas oriundas de outros ecossistemas, devido ao curto espaço de tempo para eventos de especiação (Araújo & Henriques, 1984; Scarano, 2002). As restingas apresentam filtros ambientais severos, como altas temperaturas e irradiâncias, déficit hídrico e nutricional e altos níveis de salinidade (Melo Jr. & Boeger, 2018; Silva et al., 2020), que podem afetar a aclimatação das plantas ao longo do tempo. Segundo Assumpção & Nascimento (2000), as restingas do Complexo Lagunar de Grussaí e Iquipari (CLGI) diferem das demais restingas do estado pela ausência de dunas e extensa zona de praia, apresentando quatro formações vegetacionais: formação de mata de restinga (ambiente sombreado, com plantas de maior porte e solo com maior quantidade de matéria orgânica), formação de *Clusia* (moitas adensadas, tendo a espécie *Clusia hilariana* na região central, gerando um sombreamento intermediário), formação praial com moitas (moitas menores apresentando alta disponibilidade de PAR (radiação fotossinteticamente ativa) e baixa disponibilidade de matéria orgânica) e formação praial graminóide (formada por plantas rasteiras e herbáceas com alta disponibilidade de PAR; os efeitos do vento, maresia e salinidade tornam esta região altamente seletiva para espécies vegetais). Cada formação vegetacional apresenta variáveis microclimáticas e edáficas distintas, onde algumas espécies possuem a capacidade de vencer estes filtros ambientais e coexistir nestas formações (Araújo & Henriques, 1984; Assumpção & Nascimento, 2000).

Com o intuito de superar os filtros ambientais encontrados, as plantas ajustam seus atributos funcionais foliares estruturais e fisiológicos, devido ao caráter plástico da folha (Sultan, 2000; Wright et al., 2004; Araújo et al., 2021). Segundo Melo Jr. & Boeger (2016), para superar as altas irradiâncias e perder menos água para a atmosfera, as plantas podem investir na maior espessura de epidermes e cutículas, diminuir sua área foliar e buscar uma maior densidade com menor tamanho de estômatos. Visando a eficiência de trocas gasosas, as plantas podem diminuir o grau de abertura estomática (g_s) e de transpiração (E) para ter uma assimilação de carbono (A) mais equilibrada (Zhou et al., 2013). Segundo Pireda et al. (2019), a eficiência fotossintética pode ser obtida com o aumento da espessura do paliçádico e lacunoso, elevando assim os valores de rendimento do PSII ($Y(II)$ e F_v/F_m).

Borges e colaboradores (2022) afirmam que esses ajustes acimatativos das plantas podem se dar por processos de plasticidade e integração fenotípica. A plasticidade fenotípica representa a capacidade do genótipo de expressar fenótipos sobre distintas condições ambientais (Sultan, 2000; Valladares et al., 2007). Pigliucci (2003) afirma que a integração fenotípica se trata como a rede de covariações funcionais entre os diferentes atributos das plantas. Ainda não existem muitos estudos abrangendo estes mecanismos em plantas de restinga, porém acredita-se que a plasticidade e a integração fenotípica atuem juntos na aclimação das espécies em ambientes adversos (Zimmermann et al., 2016; Pireda et al., 2019; Matesanz et al., 2021; Borges et al., 2022).

Neste sentido, partimos da premissa de que, para as espécies vegetais se aclimatarem as diferentes formações vegetacionais de restinga, foram necessários ajustes de vários atributos funcionais foliares. Diante disso, o presente trabalho buscou identificar os principais atributos funcionais foliares estruturais e fisiológicos, que permitiram com que as espécies vegetais se aclimassem em diferentes formações vegetacionais de restinga. Através desta proposta, foram levantados alguns questionamentos, os quais foram divididos em dois capítulos:

Capítulo 1: 1) *Os atributos foliares convergem entre espécies que compartilham o mesmo habitat?* 2) *Os atributos foliares das espécies dominantes são diferentes entre cada tipo vegetacional?* 3) *O que é mais importante na definição dos atributos foliares, a taxonomia da espécie ou o habitat que ela ocupa?*

Capítulo 2: *1) Quais foram os ajustes (i.e., estruturais e fisiológicos) que permitiram a coocorrência das espécies em formações de restinga? 2) As estratégias aclimatativas desenvolvidas pelas espécies, em respostas às heterogeneidades ambientais das formações de restinga são espécie-específicas ou existe um padrão de resposta convergente? 3) O processo de aclimação das espécies é mediado por ajustes plásticos e/ou integrados?*

Espera-se obter resultados que possam contribuir para o entendimento dos processos de consolidação da vegetação de restinga e para a predição de mudanças climáticas futuras. Com os conhecimentos relacionados a formação das restingas, é possível obter informações relevantes para a reestruturação, conservação e manutenção deste ecossistema.

2. Fundamentação Teórica

2.1 Mata Atlântica

A Mata Atlântica é considerada um bioma de grande extensão e biodiversidade, apresentando uma área original de aproximadamente 1.315.460 km² (SOS Mata Atlântica, 2019-2020), que se estende do Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul (Murray-Smith et al., 2009). Trata-se da segunda maior floresta tropical pluvial do mundo, sendo um dos domínios biogeográficos mais importantes da América do Sul, abrangendo cerca de 8% de toda a biodiversidade mundial (Ribeiro et al., 2009; Magnago et al., 2015). Aproximadamente 269 espécies de mamíferos, 372 de anfíbios, 849 de aves, 197 de répteis e 20000 de plantas vasculares foram descritas na Mata Atlântica, sendo muitas dessas espécies classificadas como endêmicas (SOS Mata Atlântica, 2019-2020).

Existe uma distribuição heterogênea neste bioma em várias fitofisionomias, como Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Mista, Floresta Ombrófila Aberta, manguezais, campos de altitude, restingas, brejos interioranos, enclaves florestais, Floresta Estacional Semidecidual e Floresta Estacional Decidual (Figura 1; Câmara, 2003; Ribeiro et al., 2009). Esta heterogeneidade pode ser explicada por três fatores: latitude, longitude e altitude. Segundo Vanzolini (1988), a latitude da Mata Atlântica é estendida por aproximadamente 27% do globo terrestre. Quanto a longitude, Rizzini (1997) explica que esta grande longitude torna distantes os ambientes atlânticos do interior com os do litoral. Buzzetti (2000) explica que variações altitudinais são comuns

na área de Mata Atlântica, se estendendo do nível do mar até 2700 m de altura. Devido a estes fatores, são formados distintos microclimas com variações nos níveis de precipitação e solo dentro deste domínio (Ribeiro et al., 2009).

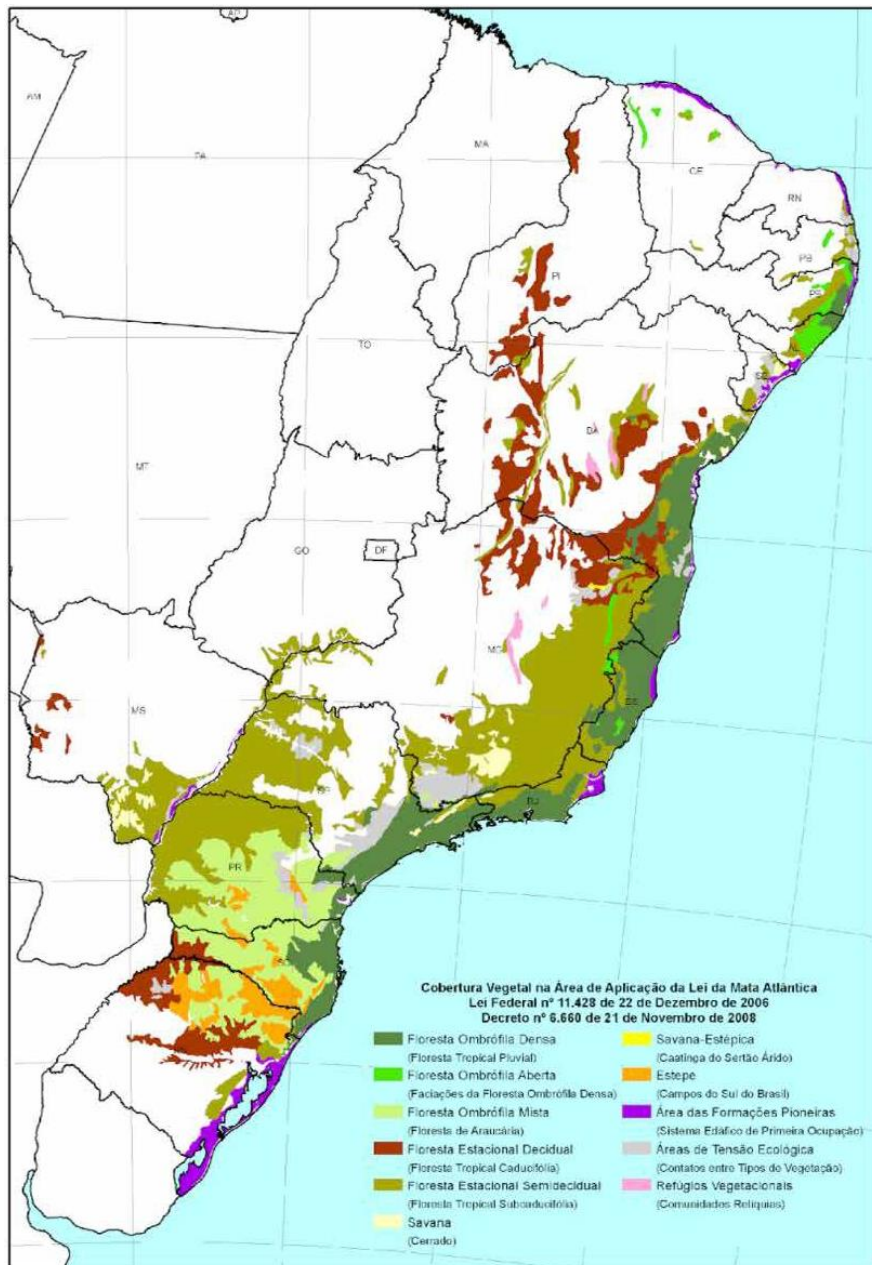


Figura 1: Mapa da distribuição das fitofisionomias da Mata Atlântica. (SOS Mata Atlântica 2019-2020).

Este bioma vem sofrendo um contínuo processo de fragmentação e de desmatamento, que se iniciou com as constantes expedições portuguesas enviadas ao litoral brasileiro entre 1500 e 1530 (SOS Mata Atlântica, 2019-2020). A sua alta biodiversidade, elevado grau de endemismo e altas taxas de desmatamento, fizeram a Mata Atlântica estar incluída como um dos 34 *hotspots* mundiais (Myers et al., 2000),

sendo classificada como área prioritária para conservação (Rezende *et al.*, 2018). Segundo Scarano & Ceotto (2015) esta fragmentação florestal aumenta a vulnerabilidade das espécies vegetais às mudanças climáticas, devido a processos de savanização e de perda de biodiversidade.

Quando nosso enfoque é a condição de conservação da Mata Atlântica no estado do Rio de Janeiro, é possível afirmar que este se encontra altamente fragmentado. De 100% do território do Rio de Janeiro coberto pela Mata Atlântica (4.394.507 hectares), atualmente seus remanescentes florestais são: de 30,7%, sendo deste total: 18,6% de florestas, 0,3% de manguezais e 1,2% de restingas (SOS Mata Atlântica, 2018-2019), conforme foi apresentado na Figura 2.

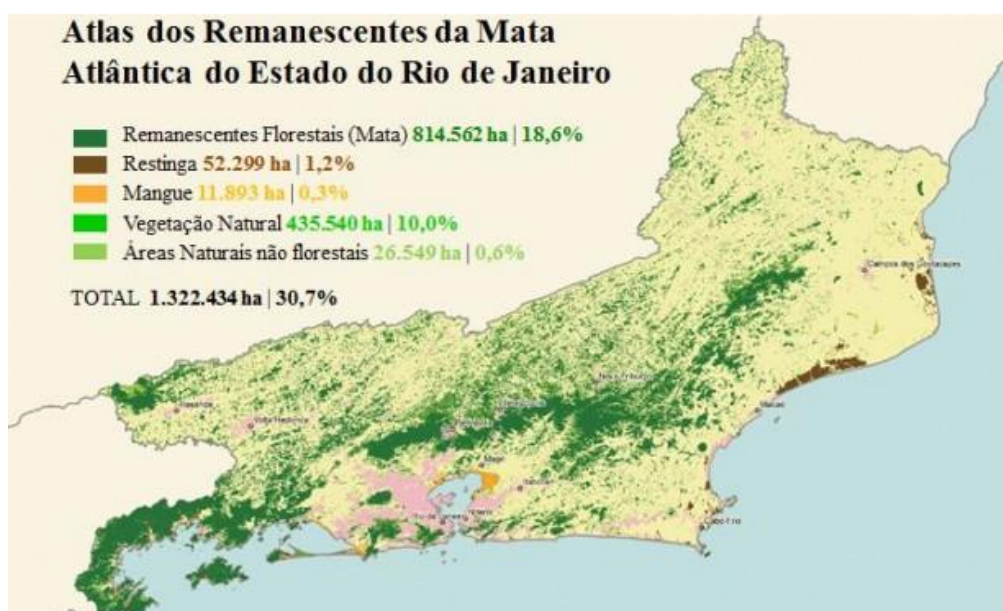


Figura 2: Distribuição de remanescentes da Mata Atlântica para o estado do Rio de Janeiro. (SOS Mata Atlântica, 2018-2019).

Devido ao seu atual estado de degradação, as restingas necessitam de estudos mais aprofundados de sua fauna e flora, consolidação da vegetação deste ecossistema, como também de suas variáveis microclimáticas e edáficas, para que programas de conservação sejam implantados para a proteção de suas espécies.

2.2 Formações Vegetacionais de Restinga

Segundo a resolução CONAMA (2012), restinga é todo depósito arenoso paralelo à linha costeira em direção ao interior do continente produzido por sedimentação através de transgressões e regressões marinhas durante o período Quaternário. Trata-se de um

ecossistema altamente instável, devido a proximidade com o litoral, ação dos ventos, das marés e do spray marinho (Cirne et al., 2003). Além disso, são ambientes de alta irradiância e salinidade, baixa disponibilidade hídrica e nutricional, solo arenoso com baixa retenção de água e intenso efeito antrópico (Assumpção & Nascimento, 2000; Rollo et al., 2013; Melo Jr. & Boeger, 2018).

A variedade de formações vegetais da restinga depende de condições como: variação na topografia, influências marinhas e continentais e da flutuação do lençol freático (Araújo & Henriques, 1984). Araújo (2000) afirma que a vegetação deste ecossistema teria sido formada de plantas provenientes de ecossistemas próximos. Alguns estudos ainda relatam, que devido as restingas serem ecossistemas recentes, formados entre 8 e 10 mil anos, não houve tempo suficiente para suas espécies passarem por eventos de especiação (Castro et al., 2012).

Segundo Melo Jr. & Boeger (2018), os ecossistemas de restinga são formados por uma grande variedade de formações vegetacionais, que vão desde formações reptantes próximas ao mar até formações florestais, abrangendo também brejos sazonais e permanentes. Alguns estudos sobre estas formações já foram realizados, como Sá (1996) que observou cinco formações vegetacionais na restinga de Saquarema-RJ. Assis et al. (2004) descreveram dez formações vegetacionais na Restinga de Sepetiba-ES. Por sua vez, Dau (1960) descreveu a estrutura da restinga de Cabo Frio-RJ e encontrou quatro formações vegetacionais (graminóide, palmóide, parque e mata).

Fernandes (2006) afirma que a riqueza florística e a diversidade funcional das restingas aumentam na medida que se distanciam do mar. Segundo Assumpção & Nascimento (2000), este gradiente vegetacional presente nas restingas do Norte Fluminense do estado do Rio de Janeiro é formado por quatro formações vegetacionais: formação de mata de restinga, formação de *Clusia*, formação praial com moitas e formação praial graminóide (Figura 3).

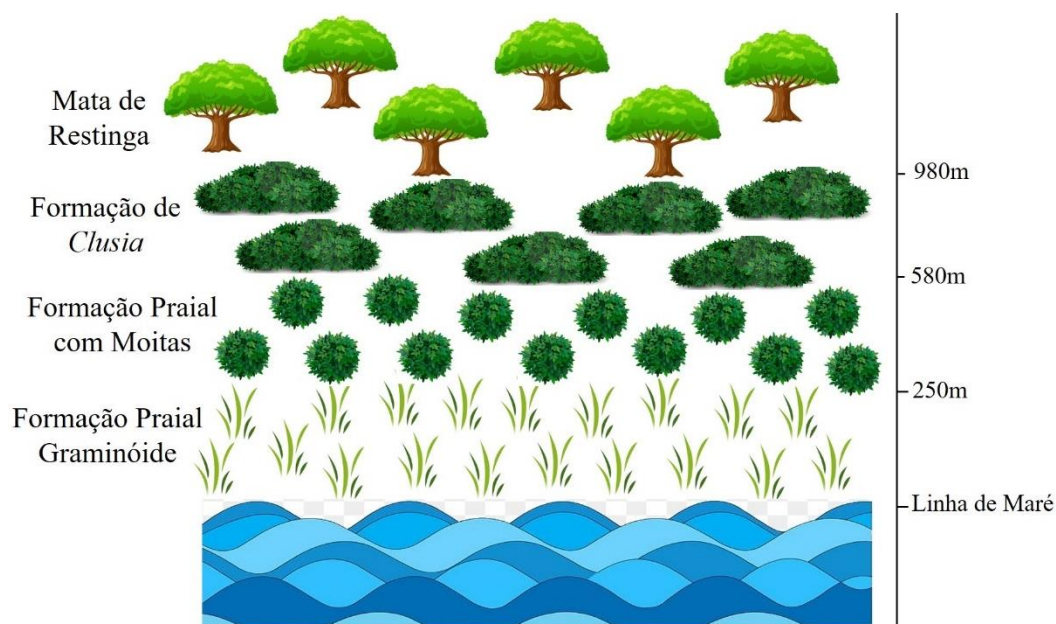


Figura 3: Esquema da distribuição das formações vegetacionais das restingas do Norte Fluminense – RJ, proposto por Assumpção & Nascimento (2000) (Acervo pessoal).

A formação de mata de restinga começa a partir de 980 m da linha de maré, formando uma mata contínua, sendo a formação de maior ciclagem de nutrientes e maior quantidade de serrapilheira (Assumpção & Nascimento, 2000; Cabral et al., 2018). A presença de um dossel consolidado diminui a irradiância que chega às plantas inferiores (Pireda et al., 2019). A altura das espécies vegetais pode chegar até 15 metros, sendo a formação com a maior faixa de altura dos indivíduos (Araújo & Henriques, 1984). Há o aparecimento de outras espécies que não são abundantes nas outras formações, como *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae), *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl (Capparaceae) e *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T. D. Penn. (Sapotaceae) (Assumpção & Nascimento, 2000).

Quanto ao microclima, a mata de restinga apresenta menores valores de irradiância e valores elevados de temperatura e déficit de pressão de vapor (VPD), quando comparado as outras formações vegetacionais (Assumpção & Nascimento, 2000; Melo Jr. & Boeger, 2016). O solo tem os menores valores de pH, com os níveis de Mg, C, matéria orgânica, N, condutividade elétrica e umidade do solo bastante elevados (Corrêa et al., 2020). Estas características microclimáticas e edáficas a tornam como a formação com maior riqueza e diversidade de espécies (Assumpção & Nascimento, 2000).

A formação de *Clusia* apresenta uma copa superior de 5 a 10 metros de altura, e ocorre a partir de 580 m e se estende até 980 m da linha do mar (Figura 3). É caracterizada pelo adensamento das moitas, sendo uma região de transição entre a mata de restinga e a

formação praial com moitas (Assumpção & Nascimento, 2000; Melo Jr. & Boeger, 2016). Nesta formação se destaca a espécie *Clusia hilariana* Schltdl. (Clusiaceae) que está presente na região central da moita, funcionando como espécie focal. Esta desempenha um papel ecossistêmico importante, uma vez que enriquece o solo a partir da queda das suas folhas, favorecendo assim uma maior diversidade de espécies vegetais ao seu redor (Corrêa et al., 2020; Villela et al., 2020).

O microclima da formação de *Clusia* apresenta níveis elevados de irradiância, com a temperatura e o VPD se assemelhando aos níveis encontrados na mata de restinga (Melo Jr. & Boeger, 2016). Níveis intermediários de pH e N foram encontrados com as análises de solo. Valores elevados de Na, C, matéria orgânica, condutividade elétrica e umidade foram característicos do solo desta formação (Corrêa et al., 2020; Villela et al., 2020).

A formação praial com moitas começa a partir dos 250 m se estendendo até aproximadamente 580 m da linha do mar (Figura 3; Assumpção & Nascimento, 2000). As moitas são formadas por arbustos e arvoretas de até 4 m de altura (Melo Jr. & Boeger, 2016). A formação destas, está diretamente relacionada ao fenômeno de nucleação, onde principalmente espécies de bromélias e cactos formam um microclima adequado para surgimento de outras espécies, tais como *Schinus terebinthifolius* Raddi. (Anacardiaceae), *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) e *Scutia arenicola* (Casar.) Reissek (Rhamnaceae) (Assumpção & Nascimento 2000; Pireda et al., 2019). Vale ressaltar que essas espécies também são encontradas em outras formações vegetacionais, o que destaca sua capacidade de aclimatação frente a diferentes variáveis ambientais (Pireda et al., 2019).

A formação praial com moitas trata-se da formação com os maiores valores de irradiância e menores valores de temperatura e VPD (Pireda et al., 2019). Seu solo é bem característico com um pH mais neutro (6,8), apresentando os menores valores de Mg, Na, C, matéria orgânica, Zn, Mn, N, condutividade elétrica e umidade do solo quando comparado as outras formações vegetacionais (Melo Jr. & Boeger, 2016).

A formação praial graminóide é constituída por espécies herbáceas, se estendendo da linha de maré até 250 m (Figura 3; Assumpção & Nascimento, 2000; Arruda et al., 2009). Geralmente são rasteiras, não apresentam porte arbóreo e caules lenhosos (Araújo, & Henriques, 1984). Espécies como a *Ipomoea imperati* (Vahl) Griseb (Convolvulaceae) e *Blutaparon portulacoides* (A. St.-Hil.) Mears (Amaranthaceae) são dominantes nesta formação vegetal, atuando como pioneiras e estabilizando o substrato (Cordazzo et

al., 2006). Segundo Ormond (1960), as espécies vegetais conseguem alterar o padrão do vento próximo ao solo, aumentando a deposição de partículas.

A formação praial graminóide é uma região de intenso efeito antrópico, principalmente durante os meses de verão. Ao longo do ano, as principais formas de impacto são a pecuária e a retirada de areia (Rollo et al., 2013). O efeito da salinidade torna-se evidente nesta formação, devido a presença de marés e deposição de salsugem. Sua temperatura do solo pode chegar até 50 °C (Assumpção & Nascimento, 2000). Seu microclima é bem característico, apresentando valores elevados de irradiância e umidade relativa do ar, e baixos valores de temperatura e VPD (Arruda et al., 2009; Melo Jr. & Boeger, 2016). O solo apresentou o valor mais elevado de pH (8,5) dentre as formações vegetacionais. Por sua vez, valores considerados baixos foram encontrados para K, Ca, C, matéria orgânica, N e umidade do solo. Enquanto, que Na, Fe e condutividade elétrica tiveram valores elevados nesta formação (Melo Jr. & Boeger, 2016).

Deste modo, se observam diferenças microclimáticas e edáficas entre as formações vegetacionais de restinga trabalhadas, onde as espécies vegetais devem ajustar seus atributos estruturais e fisiológicos foliares para superar as variáveis impostas pelo ambiente.

2.3 Respostas Estruturais e Fisiológicas Foliares

O ecossistema de restinga apresenta inúmeras variáveis ambientais. São exemplos destas: elevados níveis de irradiância, temperatura e VPD, solo nutricionalmente pobre e salino, presença de spray marinho, ventos fortes e intenso efeito antrópico). Estas variáveis induzem alterações estruturais e fisiológicas nas espécies vegetais (Melo Jr. & Boeger, 2016; Pireda et al., 2019).

Condições de baixa disponibilidade hídrica e elevados níveis de irradiância podem influenciar diretamente nos atributos estruturais foliares. A área foliar está relacionada com a captação de luz pela folha. Em locais de baixa irradiância como em ambientes florestais, as folhas tendem a aumentar sua superfície para uma captura mais eficiente de luz (Campbell et al., 2018; Pireda et al., 2019). Em ambientes mais secos sem a presença de um dossel consolidado, como nas restingas, as espécies vegetais tendem a investir em folhas menores visando uma menor perda de água (Melo Júnior et al., 2019). O conteúdo de água na folha e a massa foliar por área também são atributos estruturais relevantes, e ambos se mostram mais elevados em espécies que vivem em condições de baixa

disponibilidade hídrica (Pireda et al., 2019). Grubb e colaboradores (2015) relatam a capacidade dos indivíduos de armazenar água nos seus tecidos foliares para superar os períodos secos do dia. A massa foliar por área é um atributo que quantifica os esqueletos de carbono da folha (Borges et al., 2022). Folhas com mais esqueletos de carbono na sua constituição, se tornam mais duras e menos palatáveis a herbívoros, sendo uma estratégia interessante para as espécies de formações florestais (Turner, 1994; Wright et al., 2004). Segundo Melo Jr. & Boeger (2016), espécies vegetais que vivem em altas irradiâncias também podem desenvolver folhas com maior massa foliar por área, sendo uma estratégia comum em plantas de restinga se buscando maior longevidade foliar.

A espessura foliar pode ser representada por um maior espessamento do parênquima paliçádico e lacunoso, epidermes e cutículas (John et al., 2017; Simioni et al., 2017). O formato e a disposição das células do parênquima paliçádico favorecem o direcionamento e a captação da luz pelos cloroplastos (Vogelmann et al., 1996; Oguchi et al., 2018). Os espaços intercelulares do parênquima lacunoso proporcionam a captação de CO₂, influenciando na concentração interna de carbono e na taxa fotossintética líquida da planta (Rabelo et al., 2013; Pireda et al., 2019). O investimento em epidermes e cutículas mais espessas pode ser uma estratégia para suportar o aquecimento do mesófilo e de dissipar o excesso de luz refletida (Vogelmann et al., 1996; Rabelo et al., 2013). Segundo Pireda et al. (2019), plantas que estão sobre altas irradiâncias e temperaturas podem ainda diminuir o tamanho dos seus estômatos e aumentar o seu número. Esta estratégia visa a abertura e o fechamento mais rápido dos estômatos, levando a captura de CO₂ com menor perda de água para o ambiente (Violet-Chabrand et al., 2017).

A baixa disponibilidade hídrica e nutricional, como também as altas irradiâncias do ambiente de restinga, não influenciam somente os atributos estruturais da folha, mas podem influenciar também os atributos fisiológicos. A condutância estomática (*g_s*) é caracterizada como o grau de abertura estomática. Este atributo influencia a taxa fotossintética líquida (*A*) e a taxa de transpiração (*E*) (Zhou et al., 2013). Deste modo, plantas em ambiente de baixa disponibilidade hídrica trabalham com estômatos mais fechados para diminuir a sua transpiração, e conseqüentemente, assimilam menos CO₂ (Pireda et al., 2019). Em ambientes florestais os níveis de *g_s* se apresentam maiores, havendo uma maior assimilação de carbono (*A*) e uma conseqüente elevada taxa de transpiração (*E*) (Zhou et al., 2013).

O rendimento quântico efetivo do PSII (fotossistema II) ($Y(II)$) representa a quantidade de luz capturada e direcionada ao processo fotoquímico (Genty et al., 1989). Ambientes de baixa disponibilidade hídrica e alta irradiância podem levar as plantas a sofrerem estresse térmico e oxidativo na sua maquinaria fotossintética. Geralmente estas diminuem o $Y(II)$ e aumentam a energia dissipada, resultando também na diminuição dos valores de rendimento quântico máximo do PSII (F_v/F_m) (Chen et al., 2006; Pireda et al., 2019), que é um indicativo de estresse. Valores de F_v/F_m menores que 0.75 (de 100 fótons que chega no PSII, menos de 75% são direcionados para fotossíntese) indicam que a maquinaria fotossintética pode estar passando por estresse (Bolhàr-Nordenkamp et al., 1989).

O processo de aclimação das espécies vegetais se dá por alterações estruturais e fisiológicas foliares, mas também por mecanismos de plasticidade e/ou integração de seus atributos. Estes ajustes auxiliam as plantas a vencerem as variáveis ambientais impostas a elas.

2.4 Plasticidade e Integração Fenotípica

As plantas são seres vulneráveis às variáveis ambientais às quais estão inseridas. Para superar isso, estas espécies vegetais podem desenvolver estratégias aclimatativas para sobreviverem às condições impostas pelo ambiente (Valladares et al., 2006). Segundo Bradshaw (1965), esta capacidade de ajustar seus atributos funcionais foliares se mostra relacionada com a plasticidade fenotípica. Sabendo que a folha é o órgão mais plástico da planta (Sultan, 2000), define-se plasticidade fenotípica como a capacidade do genótipo de expressar distintos fenótipos frente às variáveis ambientais (Valladares et al., 2006).

Sabendo disso, nem toda alteração nos atributos funcionais é considerada como adaptativa (Van Kleunen & Fisher 2005). Existem casos que a plasticidade não acrescenta maiores chances de sobrevivência aos indivíduos, dá-se o nome de plasticidade não-adaptativa, e ainda, quando essa plasticidade compromete o desempenho dos indivíduos, dá-se o nome de plasticidade desadaptativa (Ghalambor et al., 2007). Segundo Tyree e colaboradores (1994), pode acontecer também que uma característica promova vantagem à sobrevivência dos indivíduos, mas leve a consequências negativas em outros aspectos (*trade-off*), funcionando como um mecanismo de compensação. Kreyling e colaboradores (2019) afirmam que em condições ambientais heterogêneas, o sucesso aclimatativo das

plantas em modificar atributos funcionais é reduzido drasticamente, pois nem todo fenótipo age de forma positiva a sua sobrevivência.

Poot & Lambers (2008) afirmam que para se reduzir os *trade-offs* ambientais e o desenvolvimento de atributos não vantajosos, as espécies vegetais podem investir mais em integração do que em plasticidade. A integração fenotípica se apresenta como o conjunto de correlações funcionais entre os atributos (Pigliucci, 2003). Em trabalhos anteriores, foram observados fenótipos mais integrados e menos plásticos (Valladares et al., 2007; Matesanz et al., 2010). Gianoli & Palacio-López (2009) encontraram uma correlação negativa entre plasticidade e integração para duas espécies vegetais em situações de sombreamento e seca. Trabalhos recentes demonstraram uma correlação positiva entre plasticidade e integração, indicando que esses processos atuam juntos na aclimatação em ambientes adversos (Figura 4; Zimmermann et al., 2016; Pireda et al., 2019; Matesanz et al., 2021; Borges et al., 2022).

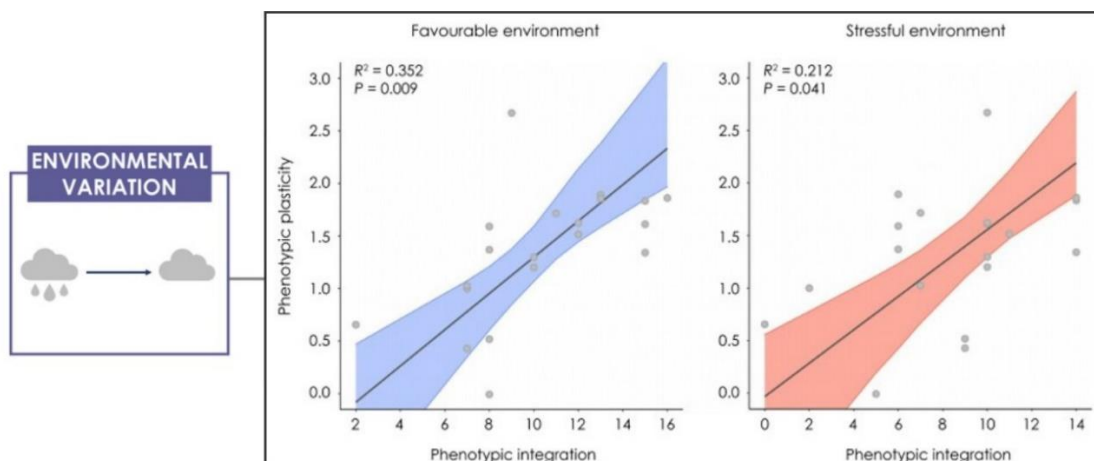


Figura 4: Correlação positiva entre plasticidade e integração fenotípica independente das variáveis ambientais. Fonte: Matesanz et al. (2021).

Fenótipos mais plásticos e/ou integrados das espécies vegetais de restinga, podem contribuir para vencer as variáveis ambientais encontradas nas formações vegetacionais, ajudando a entender o processo de aclimatação de plantas em ambientes de baixa disponibilidade hídrica.

3. Objetivo Geral

Identificar a influência dos principais atributos funcionais foliares estruturais e fisiológicos que permitiram com que as espécies vegetais se aclimassem em diferentes formações vegetacionais de restinga (formação de mata de restinga, formação de *Clusia*, formação praial com moitas e formação praial graminóide), a fim de se compreender melhor o processo de aclimação frente a variáveis microclimáticas e edáficas distintas.

3.1 Objetivos Específicos

- Caracterizar os fatores microclimáticos e edáficos de cada formação vegetacional para evidenciar as principais variáveis ambientais atuantes;
- Analisar os atributos estruturais foliares que possam influenciar no processo de aclimação, visando armazenamento ou restrição a perda de água;
- Identificar alterações micromorfológicas foliares que possam indicar estratégias de restrição a perda de água;
- Avaliar as taxas fotossintéticas líquidas (A), transpiração (E) e condutância estomática (g_s) para compreender se as trocas gasosas são relevantes para a sobrevivência das espécies nas formações vegetacionais;
- Analisar a eficiência fotoquímica do fotossistema II (PSII) a partir da emissão de fluorescência da clorofila a para se observar o rendimento do PSII;
- Avaliar se a aclimação das espécies é controlada por mecanismos de plasticidade e/ou integração do fenótipo;
- Interpretar através da análise de cluster, a similaridade entre as formações vegetacionais para avaliar a proximidade entre as espécies;
- Identificar pela análise de partição de variância, a influência da vegetação e a identidade taxonômica como controles da variação nas características foliares.

A presente tese foi dividida em dois capítulos e estes serão destinados a publicação de dois artigos:

Capítulo 1: Análises morfoanatômicas foliares respondem à variação microclimática em comunidades de plantas na Mata Atlântica.

Este trabalho foi submetido e aceito pela revista *Trees: Structure and Function* (Anexo 1).

Capítulo 2: Respostas aclimatativas de plantas coocorrentes em formações vegetacionais de uma floresta tropical.

Este trabalho será submetido à revista *Flora*.

4. Effects of microclimatic variation on plant leaf traits at the community level along a tropical forest gradient

Oliveira, Dhiego da Silva¹; Simioni, Priscila Fernanda²; Araújo, Igor⁴; Pireda, Saulo²; Pessoa, Marcos José Gomes⁵; Feitoza, Rodrigo, Barbosa Braga¹; Oliveira, Gabriel Silva¹; Amaral, Gabriel Ferreira³; Da Cunha, Maura^{1*}

¹Graduate Program in Biosciences and Biotechnology – State University of Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil. diego_oliveira_3586@yahoo.com.br; rodrigo-ita@hotmail.com; gabriel9963@hotmail.com; maurauenf@gmail.com

²Graduate Program in Ecology and Natural Resources - State University of Norte Fluminense Darcy - Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil. priscila-simioni@hotmail.com; saulopireda@hotmail.com

³Graduate Program in Plant Biology/State University of Rio de Janeiro, RJ, Brazil. gabriel.amaral0@hotmail.com

⁴Graduate Program in Ecology and Conservation - State University of Mato Grosso, Campus Nova Xavantina, Nova Xavantina, MT, Brazil. igor.araujo@outlook.com.br

⁵State University of Mato Grosso, Campus Alta Floresta, Alta Floresta, MT, Brazil. marcos-af@hotmail.com

*Corresponding author: Maura Da Cunha; maurauenf@gmail.com

Key message: Communities far from the tide line showed similarity, due to microclimatic similarities. There was a separation of the beach grass community through traits tolerant to environmental stress.

4.1 Abstract

It is challenging connections between leaf functional characteristics and environmental changes, especially in systems with high biodiversity, such as the Atlantic Forest that is considered vulnerable to climate change. This study characterizes the leaf morphoanatomy of twelve species that occur in different vegetation types (sandbank forest formation, *Clusia* formation, beach grass and shrub formation, and beach grass formation) in sandbanks ecosystem in the Atlantic Forest. We aimed to understand how leaf attributes adjust to the microclimatic variation in each vegetation type. Five individuals of each species in the vegetation types were collected. Subsequently, plant anatomy methods, including light and scanning electron microscopy, were used to make observations. Our findings showed a similarity among the sandbank forest, *Clusia* formation and beach grass and shrub formation that may be related to the short distance between plant communities and/or being exposed to similar microclimatic conditions. Characteristics such as epidermal cells with straight walls, hypostomatic leaves and thick striated cuticles helped the species to acclimatize to the conditions of high irradiance of these formations. On the other hand, the beach grass community was distinguished from the others since the species in this community have exclusive characteristics (aquiferous parenchyma, Kranz sheath, epistomatic leaf and large epidermal cells) that allow them to tolerate water and heat stress in this environment. These characteristics are present in vegetation close to sea line, but not in distant vegetations. Our results indicate expected changes in the distribution and functioning of the Atlantic Forest communities, which are characterized by large patches of environmental degradation.

Keywords: sandbanks; environmental variations; morphoanatomical; adaptive capacity

4.2 Introduction

The Atlantic Forest is considered a biome of great extension and biodiversity, with an original area of approximately 1,315,460 km² (SOS Mata Atlântica 2019-2020), which extends from Rio Grande do Norte to Rio Grande do Sul (Murray-Smith et al. 2009). It is the second largest tropical rainforest in the world, being one of the most important biogeographical domains in South America, covering about 8% of all world biodiversity (Ribeiro et al. 2009; Magnago et al. 2015). It is currently classified as a priority region for conservation and one of the main biodiversity hotspots in the world (Myers et al. 2000; Rezende et al. 2018).

Furthermore, Béllard et al. (2014) reported the Atlantic Forest is one of the three most vulnerable hotspots to landscape changes, such as climate change, invasive species, and urbanization. This is because the species in this biome are more vulnerable to extinction due to a decrease in habitat due to anthropic actions or extreme climate events (Urban, 2015). The accelerated deforestation of the Atlantic Forest threatens a distinct and exclusive biological richness that promotes the diversity of phytophysionomies associated with the biome, such as the sandbanks (Scarano & Ceotto 2015). Formed about 10,000 years ago (Holocene) as a result of sea regression processes and/or by river and lake sedimentary depositions in coastal plains (Silva 1999), the Brazilian sandbanks harbor species from neighboring ecosystems of the Atlantic Forest and other biomes. (e.g., Cerrado and Caatinga).

Sandbanks have severe environmental filters, for example, high temperatures and irradiance, water and nutritional deficit and high levels of salinity. The high incidence of winds and salt spray deposition are also observed as factors present in coastal ecosystems (Melo Jr. & Boeger 2018; Silva et al. 2020), which can affect plant fitness over time. Specifically, the sandbanks in the north of the state of Rio de Janeiro have four vegetation

types: sandbank forest (shaded environment, where the plants are larger and the soil has a greater amount of organic matter), *Clusia* formation (dense thickets with the species *Clusia hilariana* in the central region, generating intermediate shading), beach grass and shrub formation (small thickets due to the high effect of irradiance, where the soil is extremely poor) and the beach grass formation (inhabited by creeping and herbaceous plants, and the effects of high irradiance, wind, sea air and salinity make this region highly selective for plant species) (Arruda et al. 2009; Assumpção & Nascimento 2000). The microclimatic and edaphic differences present between the vegetation types lead to the formation of a vegetation gradient that increases as one moves away from the sea. For the species to acclimatize in these formations, it is necessary to adjust their morphological and anatomical leaf attributes (Cerqueira 2000; Scarano 2002; Melo Jr. & Boeger 2016).

Understanding how leaf morphological and anatomical attributes vary along environmental gradients is essential to clarify how selective processes act in different species (Reich et al. 1992; Rozendaal et al. 2006; Rossatto & Kolb 2013). In addition, it is important to understand the ecological strategies adopted by plants, for example, it is possible to evaluate the variation in leaf structure to optimize photosynthetic processes and decrease water loss to the environment, reflecting on the control of niche segregation and changes in floristic composition and species distribution (Oliveira et al. 2018; Esquivel-Muelbert et al. 2019).

In this context, the permanence of species in resource-poor environments directly depends on the functional attributes that make them adapted to local environmental filters (Sultan 2000; Wright et al. 2004; Araújo et al. 2022). The leaf is the most studied organ to understand these processes, since it responds quickly to environmental variations, being considered highly plastic (Simioni et al. 2017; Pireda et al. 2019, 2020; Araújo et al. 2021; Ariano et al. 2022; Borges et al. 2022). In addition, in xeromorphic

environments, plants tend to produce leaves with smaller leaf area and greater stomatal density, thereby reducing water loss to the atmosphere; increase the thickness of the palisade parenchyma layers in order to increase the photosynthetic capacity; invest in thickening the cuticle in order to reduce the loss of water to the environment; and increase leaf thickness to improve water storage and more equal distribution of light by the mesophyll (Melo Jr. & Boeger 2018; Pireda et al. 2019) making leaves more resistant to water stress, high irradiance, salinity and nutritional poverty (Niinemets 2001; Arruda et al. 2009; Amorim & Melo Junior 2017; Cabral et al. 2018). Some herbaceous species, in order to overcome the environmental variables present in the sandbanks, end up investing in structures such as: aquiferous parenchyma, Kranz sheath, bulliform cells and isobilateral mesophyll, aiming at greater storage with less water loss, more efficient gas exchange and light capture (Arruda et al. 2009; Viana et al. 2021). In this way, there is a variety of combinations of leaf morphoanatomical attributes that are shaped by different environmental factors and result in different forms of tolerance to drought and high irradiance.

Therefore, our study compares and characterizes the leaf morphoanatomical attributes of dominant species that occur in different vegetation types (sandbank forest formation, *Clusia* formation, beach grass and shrub formation and beach grass formation) in a sandbank ecosystem of the Atlantic Forest. This study involves understanding plant-environment relationships, especially the consolidation processes of sandbanks vegetation and the possibility of predicting changes in the community due to future climate changes. In addition, it provides relevant information related to restructuring, conserving, and maintaining ecosystem services.

For this, we asked the questions below.

1) *Do leaf traits converge between species sharing the same habitat?* We expected to find convergent leaf attributes within the vegetation types. Specifically, we expected the vegetation types furthest from the sea line (sandbank forest formation and *Clusia* formation) to have characteristics related to less water loss to the atmosphere. On the other hand, we expected that the vegetation types closer to the sea line (beach grass and shrub formation and beach grass formation) to have characteristics related to greater water storage (Bächtold & Melo Júnior 2015; Amorim & Melo Júnior 2017; Pireda et al. 2019, 2020).

2) *Are the leaf attributes of the dominant species different between each vegetation type?* The vegetation types present a wide variability in leaf characteristics, regardless of floristic composition. Those far from the sea line were expected to have crystals and secretory structures, and lower values for leaf area and specific leaf mass, since they are subjected to high temperatures and greater vapor pressure deficit (Campbell et al. 2018; Bezerra et al. 2020; Pessoa et al. 2019, 2021). On the other hand, the vegetation types closer to the sea line were expected to have epicuticular wax, thick and striated cuticles, and high leaf water content, since they are exposed to high irradiance and higher air humidity (Arruda et al. 2009; Melo Jr. & Boeger 2018; Pireda et al. 2019, 2020).

3) *What is more important in defining leaf attributes, the species taxonomic group or the habitat it occupies?* Vegetation is likely to be more important in explaining most of the variability of the leaf characteristics in this sandbanks system than taxonomic differences, since the vegetation types are subject to different environmental conditions (Araújo et al. 2021; Emilio et al. 2021).

4.3 Materials and methods

4.3.1 Study area

The study was carried out in the Fazenda Caruara RPPN, in the Grussaí/Iquipari Lagoon Complex (GILC) in the municipality of São João da Barra, in northern Rio de Janeiro State (21° 72 65 4`S and 41° 03 64 5`W). It is the most prominent private sandbank reserve in Brazil with around 4,235 hectares. The region climate has a marked seasonality, with a rainy summer (December to March) and a dry winter (June to September), with an average annual rainfall of 1,000 mm and an average annual temperature ranging from 19 to 25 °C (Assumpção & Nascimento 2000). Its climate is type Aw according to the Koppen classification (Koppen 1948).

The Fazenda Caruara RPPN has four sandbank vegetation types: sandbank forest formation, *Clusia* formation, beach grass and shrub formation, and beach grass formation. We carried out the study along a vegetation gradient of these types (Figure 1; 2; Table 1; Assumpção & Nascimento 2000). The sandbank forest formation has 45 to 60% tree cover and an upper canopy 2 to 15 m tall. In this formation, the thickets become denser and form a continuous forest with litter. It is located 980 m from the sea line (Figure 1A; Assumpção & Nascimento 2000). The *Clusia* formation has an upper canopy 1 to 3 m tall, and *Clusia hilariana* enriches the soil with its leaves, which allows other species to colonize around it (Villela et al. 2020). This formation is 580 m from the sea line (Figure 1B; Assumpção & Nascimento 2000). The beach grass and shrub formation has a canopy that is 1 m tall and nucleation occurs where cacti and bromeliads help other plant species to become established. This formation is 250 m from the sea line (Figure 1C; Assumpção & Nascimento 2000). The beach grass formation is composed by short and herbaceous plants subjected to variations in the sea level, and consequent to the salinity and strong wind effects (Figure 1D; Assumpção & Nascimento 2000).

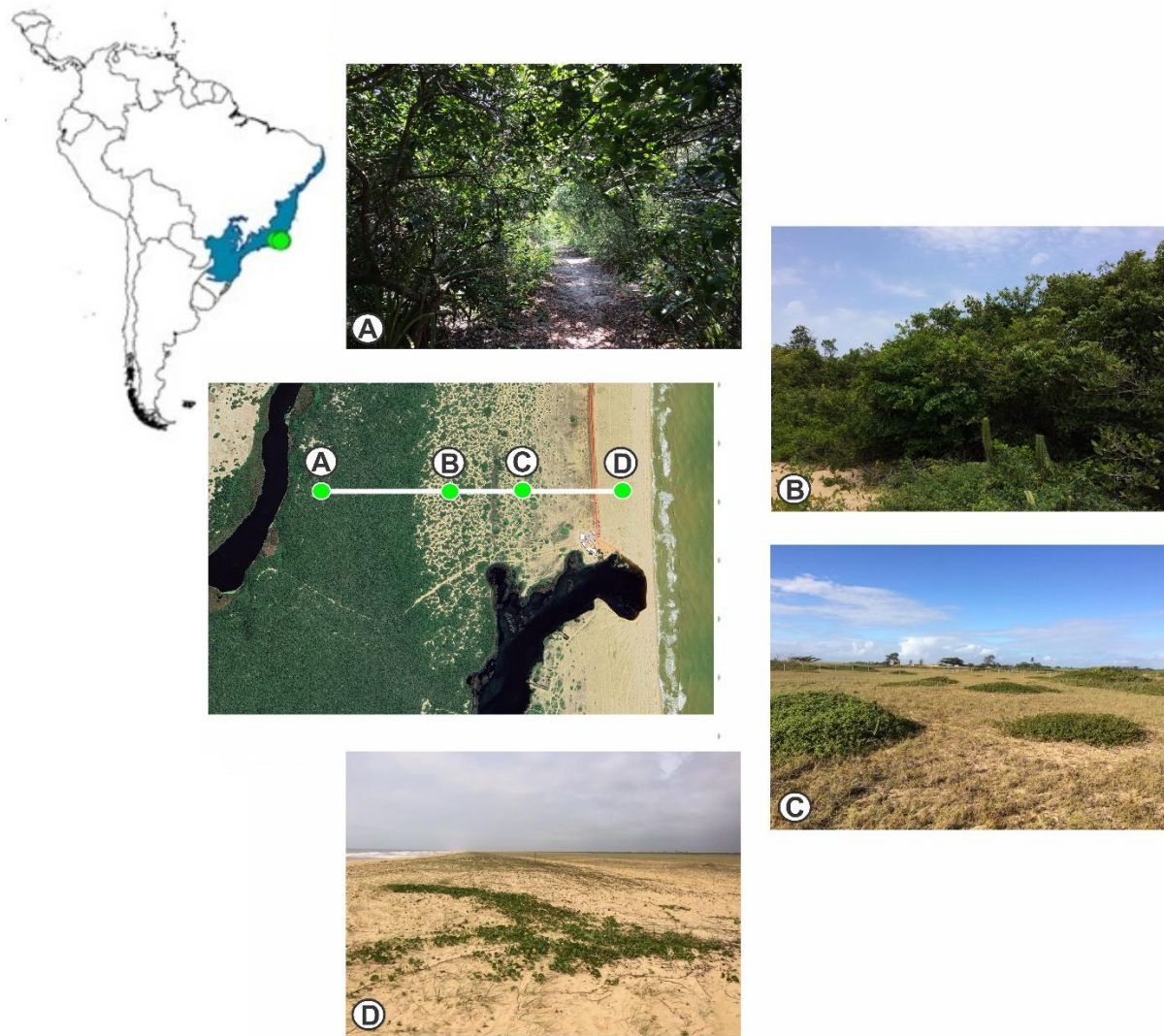


Fig 1 Sandbank vegetation types, in Rio de Janeiro, Brazil, South America. (A) Sandbank forest, (B) *Clusia* formation, (C) Beach grass and shrub formation (D) Beach grass formation. The blue zone indicates the current distribution of the Atlantic Forest in Brazil. The green dots indicate the distribution of vegetation types: sandbank forest (980m from the tide line), *Clusia* formation (580m), beach grass and shrub (250m) and beach grass formation (tidal line).

4.3.2 Species selection and data collection

To find the variation in leaf attributes, we selected dominant species based on species number, relative frequency, and importance values index for each vegetation type (Assumpção & Nascimento 2000). Thus, in sandbank forest formation, four species were selected: *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae), *Cynophalla flexuosa* (L.) J. Presl (Capparaceae), *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T.D.Penn

(Sapotaceae), and *Scutia arenicola* (Casar.) Reissek (Rhamnaceae). In the *Clusia* formation, three species were selected: *Clusia hilariana* Schlttdl. (Clusiaceae), *Inga maritima* Benth (Fabaceae), and *Pera glabrata* (Schott) Baill. (Peraceae). In the beach grass and shrub formation three species were also selected: *Schinus terebinthifolia* Raddi (Anacardiaceae), *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae), and *Varronia curassavica* Jacq. (Boraginaceae). Finally, in beach grass formation two species were selected: *Ipomoea imperati* (Vahl.) Griseb. (Convolvulaceae) and *Blutaparon portulacoides* (A.St.-Hil.) Mears (Amaranthaceae). Table 1 presents all selected species, as well as their common name, life habit, whether they are endemic or not, distribution among Brazilian phytogeography domains and conservation status.

To determine leaf morphological and anatomical characteristics, we randomly selected 25 leaves from each species (five leaves per individual) that were the following: 1) fully expanded; 2) exposed to full sun; and 3) free from damage caused by pathogens and/or herbivores. Plant sampling was done in July and September 2019. Additional details on species characteristics are in Table 1.

Tab 1 Characterization and life habits of the species in the different types of restinga vegetation. The conservation status of the species is from the National Flora Conservation Center 2022 - refflora@jbrj.gov.br - Flora do Brasil 2020, CNC Flora 2022. Data Deficient (DD), Species Not Evaluated (NE), Least Concern (LC), Endangered (EN) and Vulnerable (VU).

Plant Formation	Family	Species	Common name	Habit	Endemic	Phytogeography Domains	Conservation Status
Forest	Burseraceae	<i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.) Marchand	Pitch-white	Tree	No	Amazon, Caatinga, Cerrado, Atlantic Forest	DD - CNC Flora
	Capparaceae	<i>Cynophalla flexuosa</i> (L.) J.Presl	Wild beans	Shrub	No	Amazon, Caatinga, Cerrado, Atlantic Forest, Wetland	NE - CNC Flora
	Sapotaceae	<i>Sideroxylon obtusifolium</i> (Roem. & Schult.) T.D.Penn.	Quixabeira	Tree	No	Caatinga, Cerrado, Atlantic Forest, Wetland	LC - CNC Flora
	Rhamnaceae	<i>Scutia arenicola</i> (Casar.) Reissek	***	Shrub	No	Atlantic Forest	EN - CNC Flora
<i>Clusia</i>	Clusiaceae	<i>Clusia hilariana</i> Schlttdl.	Beach shaker	Tree	Yes	Atlantic Forest	NE - CNC Flora
	Fabaceae	<i>Inga maritima</i> Benth.	Inga of the sandbanks	Tree	Yes	Atlantic Forest	VU - CNC Flora
	Peraceae	<i>Pera glabrata</i> (Schott) Baill.	Cobbler's stick	Shrub	No	Amazon, Caatinga, Cerrado, Atlantic Forest	NE - CNC Flora
Shrub	Anacardiaceae	<i>Schinus terebinthifolia</i> Raddi	Mastic	Shrub	No	Caatinga, Cerrado, Atlantic Forest, Pampa	NE - CNC Flora
	Myrtaceae	<i>Eugenia uniflora</i> L.	Pitangueira	Shrub	No	Caatinga, Cerrado, Atlantic Forest, Pampa	NE - CNC Flora
	Boraginaceae	<i>Varronia curassavica</i> Jacq.	Whaling herb	Shrub	No	Amazon, Caatinga, Cerrado, Atlantic Forest, Pampa	NE - CNC Flora
Graminoid	Convolvulaceae	<i>Ipomoea imperati</i> (Vahl.) Griseb.	Kale	Herb	No	Amazon, Atlantic Forest, Pampa	NE - CNC Flora
	Amaranthaceae	<i>Blutaparon portulacoides</i> (A.St.-Hil.) Mears	Capotiraguá	Herb	No	Amazon, Atlantic Forest	LC - CNC Flora

4.3.3 Measurements of microclimatic parameters

To measure temperature, humidity and irradiance, a LI-250 radiometer and a thermo-hygroanemometer (AKSO – AK832) were used. Measurements at four different points around each individual in each vegetation type were taken at an average distance of 3 m from one end to the other. All individual plants (n = 20 of each species) were visited at predefined times throughout the day (12:00 to 14:00). Each month, measurements were taken from a different end, one month at the sea line and the following month in the sandbanks forest region.

Later we calculated the vapor pressure deficit (VPD) using the formula: e_s/e_a , where e_s : saturated vapor pressure of the air and e_a : vapor pressure of the air.

$$e_s: 0.61137 * \text{EXP}((17.502 * \text{Temperature}) / (\text{Temperature} + 240.97))$$

$$e_a: 1 - (\text{Humidity} / 100)$$

All measured microclimate variables are shown in figure 2.

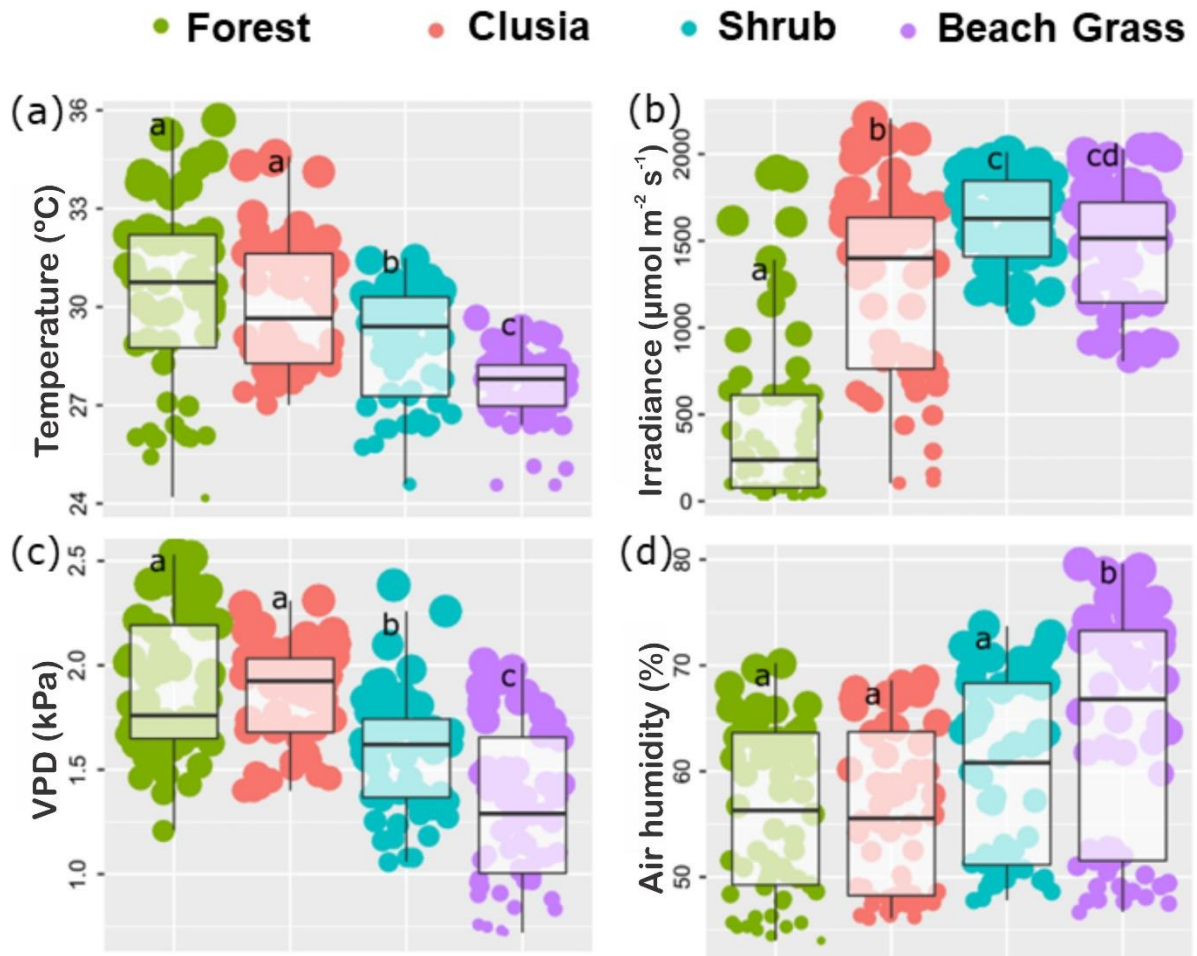


Fig 2 Microclimatic differences in the sandbank vegetation types. (a) Temperature; (b) Irradiance; (c) Vapor Pressure Deficit (VPD); (d) Air humidity. All measurements were performed monthly at noon, for a period of one year. The values were obtained through measurements around the individuals, where an average per individual and a general average were performed for each measurement taken during the month. Different lowercase letters denote significant differences (Tukey, $P < 0.05$).

4.3.4 Morphoanatomical characterization

The leaf attributes evaluated in this study are listed in Table 2. For the leaf area analysis, five expanded leaves were collected from each individual of each species (N=25). The leaves were scanned, and the area was measured using the software ImageJ, according to Rasband (1997–2008) and Perez-Harguindeguy et al. (2013). To determine the thickness, leaf water content and leaf mass area, 0.4 cm leaf discs were removed from five expanded leaves per individual. The discs were hydrated in distilled water for 24 hours and the saturated mass was measured using a digital scale (Shimadzu model AY220, Japan). In addition, a digital caliper (Stainless Hardened, Switzerland) was used to measure the thickness of the leaves. The hydrated disks were placed in an oven at 60 °C for 72 hours to measure the dry mass. The leaf water content (LWMC) was calculated as the difference between saturated mass and dry mass (Perez-Harguindeguy et al. 2013). The leaf mass area (LMA) was calculated by dividing the dry mass by the disc area (Kluge & Ting 1978).

For the stomatal density, 25 leaves per species were selected. The epidermis was dissociated using the Franklin method (1945), where the samples were placed in a solution (1:1) of acetic acid and hydrogen peroxide. Subsequently, semipermanent slides were mounted and observed under a light microscope (Axioplan, ZEISS, Germany) coupled to a camera (Moticam Pro 282B, Hong Kong).

The number counts of the stomata per mm² were performed on semipermanent slides with the choice of 25 random fields with the Image J software. Twenty-five leaves of each species were analyzed, and the thickness of the epidermis, cuticle, palisade, and spongy parenchyma was measured with the same software (Rasband, 1997-2008; Perez-Harguindeguy et al. 2013).

4.3.5 Sample preparation for anatomical analysis

Three leaves of each species were selected for light microscopy. First, the middle third fragments were fixed in a solution of 2.5% glutaraldehyde, 4% formaldehyde, and a 0.05M sodium cacodylate buffer at pH 7.2 (Karnovsky 1965, modified by Da Cunha et al. 2000). Subsequently, the samples were post-fixed in 1% osmium tetroxide and a 0.05M sodium cacodylate buffer for two hours in the dark. Then, the samples were dehydrated in a keto series and embedded in epoxy resin (Epon®). Semi-thin sections (70 nm) were made using a Reichert Ultracuts Leica Instruments® ultramicrotome and then stained with 1% toluidine blue and 1% borax buffer (Johansen 1940).

Freehand cross sections were made of the midrib, petiole and leaf blade for all species, which were stained with Astra blue and basic fuchsin. Subsequently, semipermanent slides were mounted with 50% glycerin (Johansen 1940; Kraus et al. 1998). In addition, images were taken with a camera (Moticam Pro 282B, Hong Kong) coupled to a light microscope (Axioplan, ZEISS, Germany). The images were used for the qualitative descriptions and quantitative analyses using the software Image J (Rasband 1997–2008; Perez-Harguindeguy et al. 2013).

4.3.6 Sample preparation for the micromorphological analysis

After fixing and dehydrating the material for light microscopy, part of the samples was critical point dried (CPD 030, Baltec) with CO₂, adhered to stubs with carbon tape, and coated with a thin layer (± 20 nm) of palladium gold (SCD 050, Baltec, Switzerland). Then, images were taken with a scanning electron microscope (EVO 40, ZEISS, Germany) using a voltage of 15KV.

4.3.7 Statistical analysis

To test the first hypothesis, a matrix was prepared that included the anatomical and morphological leaf variables (Table S2) obtained for each sample unit (species). Then, a two-factor cluster analysis was performed (species and anatomical variables) using the UPGMA algorithm and the Sørensen similarity coefficient, considering Jaccard distances (Lance & Williams 1967; Ferreira 2008). To test the second hypothesis, the leaf characteristics of the species were compared between the vegetations using a two-way ANOVA (with species and vegetation as predictors). Subsequently, post-hoc Tukey tests were used to test the differences in leaf characteristics of each species between the vegetations, with the individuals as the sample unit.

To test the third hypothesis, a variance partition was created to better understand the importance of taxonomic (species) versus environmental (vegetation) controls in the variation of leaf traits. Multilevel linear mixed models were constructed for each leaf trait measured, with vegetation and species as nested random factors, following the approach used by Rosas et al. (2019) and Araújo et al. (2021). Normality and homogeneity of variance were verified using the Shapiro-Wilk and Levene tests, respectively (Levene 1961; Shapiro-Wilk 1965). When necessary, the variables were transformed into log₁₀ for normality assumptions. All analyses were performed using the software R version 4.1.0v (R Core Team 2022).

Tab 2 Leaf morphological and anatomical attributes evaluated for species in different sandbanks vegetation types.¹Pireda et al. 2019; ²Turner 1994; ³Bündchen et al. 2015; ⁴Grime 1979; ⁵Weyers & Meidner 1990; ⁶Pallardy 1981; ⁷Gratani et al. 2006; ⁸Westoby 1998; ⁹Pearce et al. 2006; ¹⁰ Melo Jr. & Boeger 2018.

Traits	Acronym	Unit	Functional significance
Leaf area	LEA	cm ²	Light capture for the photosynthetic process ¹
Leaf thickness	LET	mm	Resource acquisition and use, and resistance to physical damage ²
Leaf water mass content	LWMC	mg g ⁻¹	Leaf temperature reduction and protection against desiccation ³
Leaf mass area	LMA	g.m ⁻²	Resource uptake, resource use efficiency, structural defense and growth strategies ⁴
Stomatal density	STD	mm ⁻²	Carbon assimilation and water use efficiency ⁵
Stomatal area	STA	μm	Efficiency and conservation of water use ⁶
Abaxial and adaxial cuticle thickness	ABCT / ADCT	μm	Thicker cuticle leads to less water loss in the leaf ⁷
Abaxial and adaxial epidermis thickness	ABET / ADET	μm	Light and heat dissipation ⁸
Palisade parenchyma thickness	PPT	μm	Efficient use of light and direction for the photosynthetic process ⁹
Spongy parenchyma thickness	SPT	μm	Gas exchange and directing sunlight ¹⁰

4.4 Results

4.4.1 Convergent and divergent leaf characteristics

The dendrogram shows four large groups (Figure 3). The first group is formed exclusively by the beach grass formation (*I. imperati* and *B. portulacoides*) that has thick and straight epidermal cell walls (Figure S1), a thick striated cuticle (Figure 4d; S1), crystals (Figure 4b, 4c, 4f; S2) and epicuticular wax on both sides (Figure S1). The second group is composed by only *V. curassavica* in the beach grass and shrub formation, which has characteristics such as dorsiventral mesophyll (Figure 4g), a thick cuticle (Figure 4h and S1s), stomatal crypts (Figure 4i; S2), crystals and trichomes (Figure 4g, S1; S2; S3), a papillose adaxial surface (Figure 4j) and epicuticular wax (Figure S1). The third group comprises species from the *Clusia* formation (*I. maritima* and *P. glabrata*) and sandbank forest (*C. flexuosa* and *P. heptaphyllum*), which share a hypostomatic leaf (Figure 4m; S1; S2), few layers of palisade and spongy parenchyma (Figure S2), a collateral bundle surrounded by perivascular fibers (Figure 4k; S3), a striated cuticle (Figure 4l; S1) and the presence of trichomes and associated microorganisms (Figure S1). Finally, the fourth group has species from the beach grass and shrub formation (*S. terebinthifolia* and *E. uniflora*), *Clusia* formation (*C. hilariana*) and sandbank forest formation (*S. arenicola* and *S. obtusifolium*), which have small epidermal cells (Figure 4n, 4o; S1) a petiole with a plano-convex contour (Figure S3), a striated cuticle (Figure 4o; S1) and an abundance of crystals (Figure 4p; S2).

There is a similarity between the sandbank forest, *Clusia*, and beach grass and shrub formations. However, the beach grass formation is separated from the other vegetation types due to the unique characteristics of its species, such as aquiferous parenchyma (Figure 4c and 4d), a Kranz sheath (Figure 4a and 4b), bulliform cells (Figure 4f), epistomatic leaf (Figure S1m) and isobilateral mesophyll (Figure 4c). In addition, the

aquiferous parenchyma (Figure 4e), bulliform cells (Figure 4f), stomatal crypts (Figure 4i), striated and thick cuticle (Figure 4l and 4o), presence of crystals (Figure 4g), microorganisms (Figure 4l) and isobilateral mesophyll (Figure 4c) are the main leaf attributes that separate the communities (Figure 4 and table S1).

4.4.2 Variation in leaf morphoanatomical attributes among vegetation types

Most leaf morphoanatomical attributes exhibited differences among vegetation types (Figure 5). The leaf area showed no differences between the sandbank forest and formation of *Clusia*. However, both were different from the beach grass and shrub and the beach grass formations (Figure 5a; Table S2). The leaf thickness was distinct between the *Clusia* and beach grass formations, but no difference between the sandbank forest and beach grass and shrub formations (Figure 5b; Table S2). For leaf water content, there was no difference between the sandbank forest, *Clusia*, and beach grass and shrub formations; however, all these differed from the beach grass formation (Figure 5c; Table S2). Similarly, the *Clusia* formation differed from the sandbank forest, beach shrub formation and beach grass formation in specific leaf mass and thickness of the spongy parenchyma (Figures 5d and 5l; Table S2). No differences in stomatal density were observed between the sandbank forest and beach grass and shrub formations; there were only differences for the *Clusia* and beach grass formations (Figure 5e; Table S2).

The beach grass formation differed from the other sandbank formations - sandbank forest, *Clusia* and beach grass and shrub formations - in stomatal area and abaxial epidermis (Figures 5f and 5i; Table S2). For the adaxial and abaxial cuticles, the beach grass and shrub formation species differed from the species in the other formations; there were no differences between the latter species (Figures 5g and 5h; Table S2). There

was a difference between the *Clusia* and beach grass formations for adaxial epidermis and palisade parenchyma thickness (Figures 5j and 5k; Table S2).

4.4.3 Variability of leaf morphoanatomical characteristics

To separate the effects of vegetation *versus* species on leaf traits, we performed a partition of variance analysis. The proportion of global variance by species *versus* vegetation varied according to the specific characteristic considered (Table S3). “Species” explained a high percentage of variance (53–90%) for leaf traits, including specific leaf mass, leaf area, leaf thickness, and palisade and spongy parenchyma thickness (Figure 6). Variables related to stomata (e.g., stomatal density) and leaf mesophyll characteristics (e.g., epidermis thickness) were highly associated with vegetation (> 60% of the explained variance) (Figure 6; Table S3).

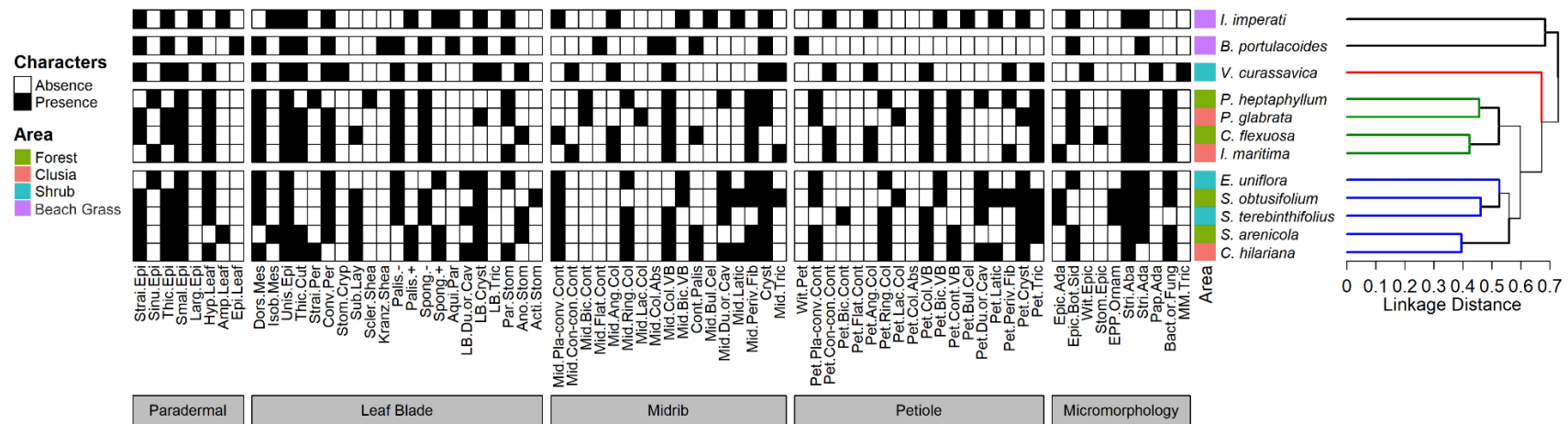


Fig 3 Similarity dendrogram (UPGMA) between 12 species of different vegetation types of sandbanks, generated by a matrix of presence and absence of anatomical characteristics. Abbreviations: Strai. Epi: Straight wall epidermal cells; Sinu. Epi: Sinuous wall epidermal cells; Thic. Epi: Thick-walled epidermal cells; Smal. Epi: Small epidermal cells; Larg. Epi: Large epidermal cells; Hyp. Leaf: Hypostomatic leaf; Amp. Leaf: Amphistomatic leaf; Epi. Leaf: Epistomatic Leaf; Dors. Mes: Dorsiventral mesophyll Isob. Mes: Isobilateral mesophyll; Unis. Epi: Uniseriate epidermis; Thic. Cut: Thick cuticle; Strai. Per: Straight periclinal wall; Conv. Per: Convex periclinal wall; Stom. Cryst: Stomatal crypt; Sub. Lay: Subepidermal layer; Scler. Shea: Sclerenchymatic sheath; Kranz. Shea: Kranz sheath; Palis -: One to three layers of palisade parenchyma; Palis +: Four to six layers of palisade parenchyma; Spong -: One to five layers of spongy parenchyma; Spong +: Six to twelve layers of spongy parenchyma; Aquif. Par: Aquiferous parenchyma; LB. Du or Cav: Ducts and/or cavities; LB. Cryst: Presence of crystals on the leaf blade; LB. Tric: Trichomes on the leaf blade; Par. Stom: Paracytic stomata; Ano. Stom: Anomocytic stomata; Acti. Stom: Actinocytic stomata; Mid. Pla-conv. Cont: Plano-convex contour; Mid. Con-con. Cont: Concave-convex contour; Mid. Bic. Cont: Biconvex contour; Mid. Flat. Cont: Straight contour; Mid. Ang. Col: Angular collenchyma; Mid. Ring. Col: Annular collenchyma; Mid. Lac. Col: Lacunar collenchyma; Mid. Col. Abs: Collenchyma absent; Mid. Col. VB: Collateral vascular bundle; Mid. Bic. VB: Bicolateral vascular bundle; Mid. Cont. Palis: Continuity of the palisade parenchyma in the rib; Mid. Bul. Cel: Bulliform cells; Mid. Du or Cav: Ducts and/or cavities in the rib; Mid. Latic: Laticifers; Mid. Periv. Fib: perivascular fibers; Mid. Cryst: Crystals present in the rib; Mid. Tric: Trichomes present on the rib; Wit. Pet: Petiole absent; Pet. Pla-conv. Cont: Plano-convex contour of petiole; Pet. Con-com. Cont: Concave-convex contour of petiole; Pet. Bic. Cont: Biconvex contour of petiole; Pet. Flat. Cont: Straight contour of petiole; Pet. Ang. Col: Petiole angular collenchyma; Pet. Ring. Col: Petiole annular collenchyma; Pet. Lac. Col: Petiole lacunar collenchyma; Pet. Col. Abs: Petiole collenchyma absent; Pet. Col. VB: Collateral vascular bundle of the petiole; Pet. Bic. VB: Bilateral petiole vascular bundle; Pet. Cont. VB: Continuity of the vascular system of the petiole; Pet. Bul. Cel: Bulliform cells; Pet. Du or Cav: Petiole ducts and/or cavities; Pet. Latic: Laticifers; Pet. Periv. Fib: Perivascular fibers of the petiole; Pet. Cryst: Presence of crystals on the petiole; Pet. Tric: Presence of trichomes on the petiole; Epic. Ada: Presence of epicuticular wax on the adaxial surface of the leaf blade; Epic. Bot. Sid: Presence of epicuticular wax on both surfaces of the leaf blade; Wit. Epic: Without wax; Stom. Epic: Presence of epicuticular wax around stomata; EPP. Ornam: Presence of cuticle ornamentation around stomata; Stri. Aba: Striated cuticle on abaxial surface; Stri. Ada: Striated cuticle on adaxial surface; Pap. Ada: Papillose surface; Bact or Fung: Fungi and bacteria; MM. Tric: Trichomes.

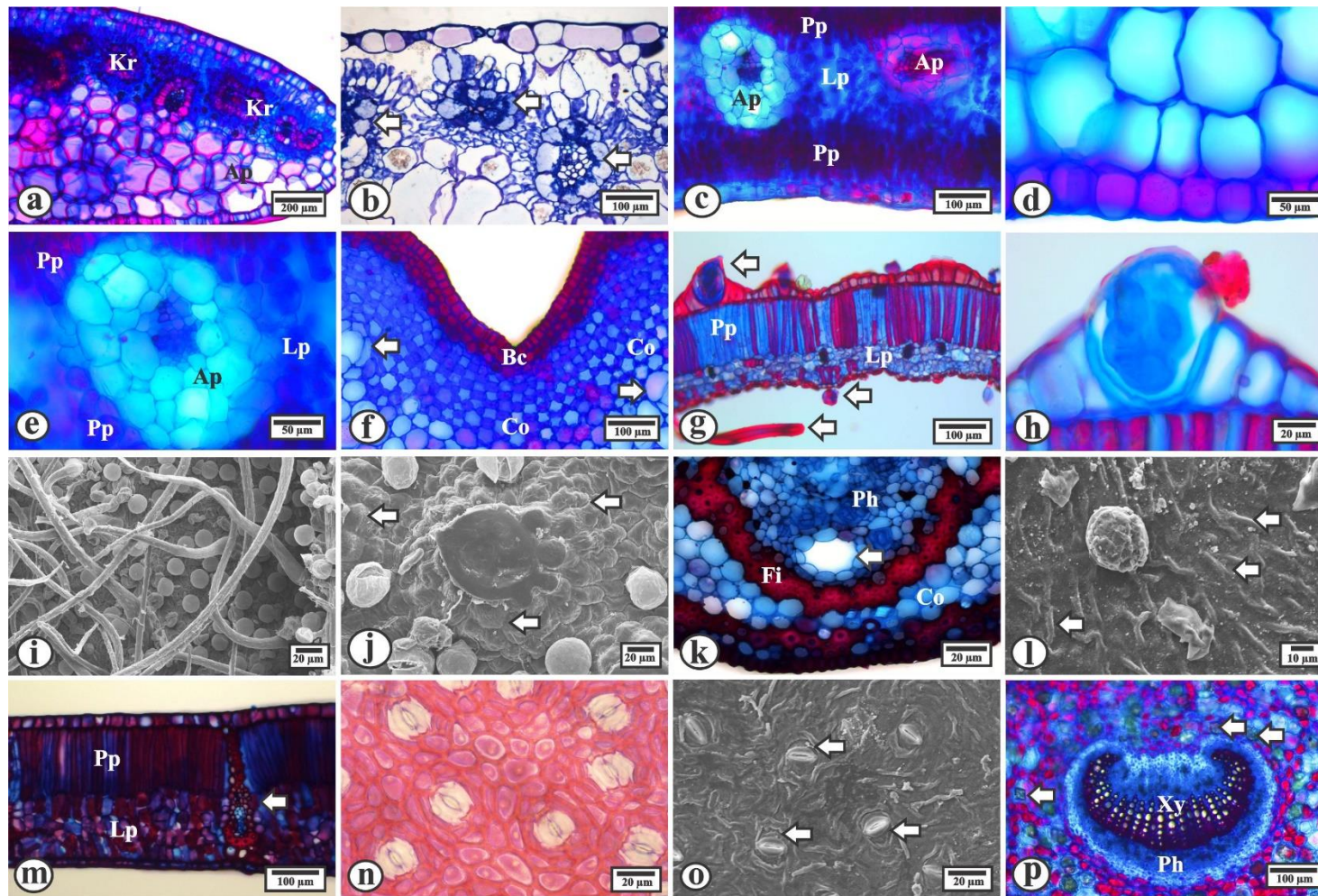


Fig 4 Anatomical images of species in the sandbank vegetation types. **(a)** Dorsiventral mesophyll of *B. portulacoides* in the beach grass formation; **(b)** Kranz sheath of *B. portulacoides* in the beach grass formation (shown by white arrows); **(c)** Isobilateral mesophyll of *I. imperati* in the beach grass formation; **(d)** Aquiferous parenchyma of *B. portulacoides* in the beach grass formation; **(e)** Aquiferous parenchyma of *I. imperati*; **(f)** Bulliform and laticifer cells in the petiole of *I. imperati* in the beach grass formation

(shown by white arrows); **(g)** Tector and glandular trichomes of *V. curassavica* in the beach grass and shrub formation (shown by white arrows); **(h)** Epidermal cell secretory in *V. curassavica* in the beach grass and shrub formation; **(i)** Trichomes on the abaxial surface of *V. curassavica* in the beach grass and shrub formation; **(j)** Papillose adaxial epidermis of *V. curassavica* in the beach grass and shrub formation (shown by white arrows); **(k)** Secretory cavity in the vein of *P. heptaphyllum* in the sandbank forest formation (shown by white arrows); **(l)** Striated cuticle and wax on the adaxial surface of *C. flexuosa* in the sandbank forest formation (shown by white arrows); **(m)** Sclerenchymatic sheath in *P. heptaphyllum* in the sandbank forest formation (shown by white arrows); **(n)** Amphistomatic leaf (adaxial surface) of *S. arenicola* in the sandbank forest formation; **(o)** Cuticle ornamentation around the stomata in *S. obtusifolium* in the sandbank forest formation (shown by white arrows); **(p)** Petiole with collateral bundle in *E. uniflora* in the beach grass and shrub formation (shown by white arrows). Bars: 200 μ m: a; 100 μ m: b, c, f, g, m, p; 50 μ m: d, e; 20 μ m: h, i, j, k, n, o; 10 μ m: l.

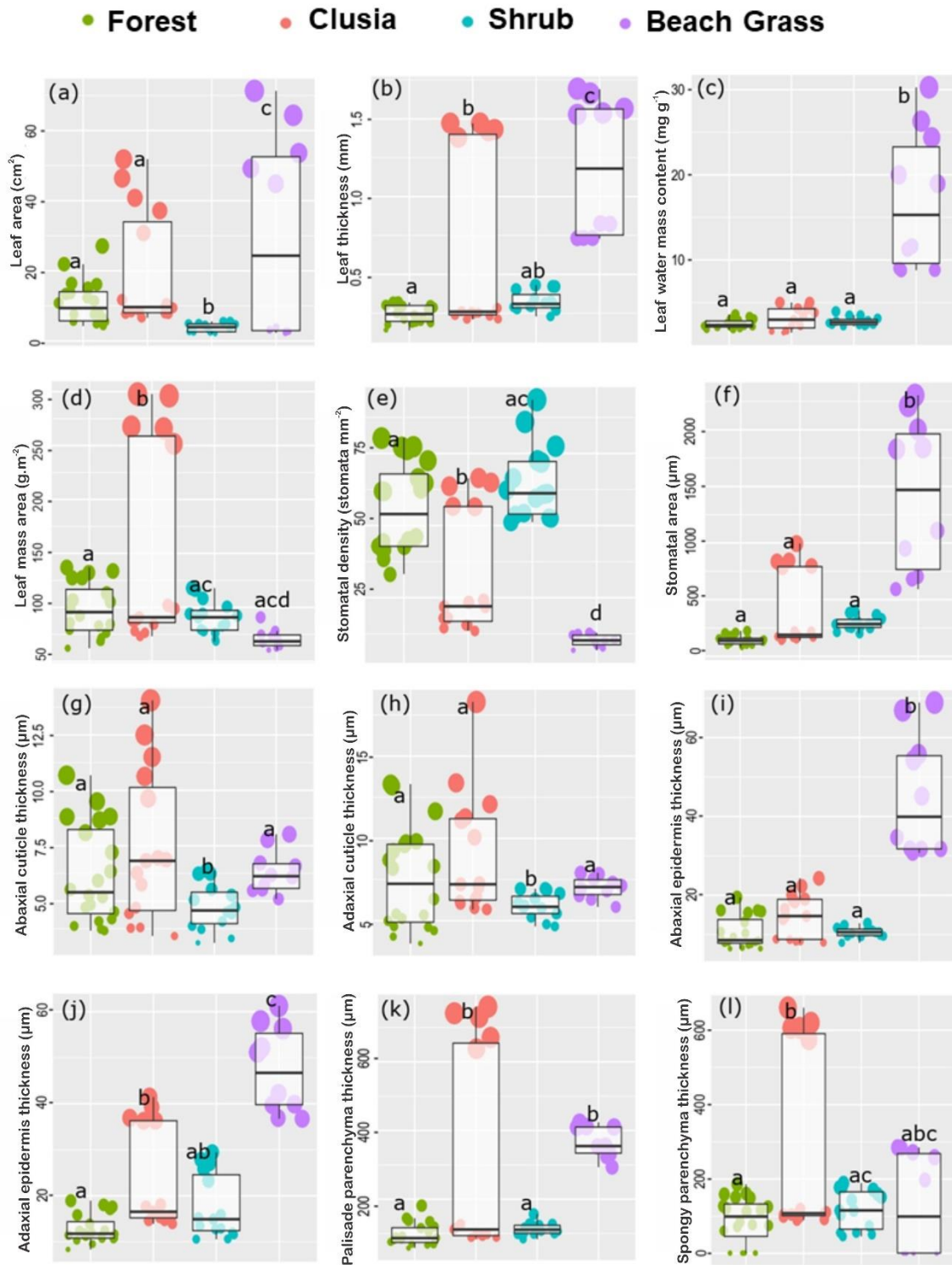


Fig 5 Leaf morphological and anatomical attributes of species in the sandbank vegetation types. **(a)** Leaf area; **(b)** Leaf thickness; **(c)** Leaf water mass content; **(d)** Leaf mass area; **(e)** Stomatal density; **(f)** Stomatal area; **(g)** Abaxial cuticle thickness; **(h)** Adaxial cuticle thickness; **(i)** Abaxial epidermis thickness; **(j)** Adaxial epidermis thickness; **(k)** Palisade parenchyma thickness; **(l)** Spongy parenchyma thickness. The points in the graphs represent the average of each individual per species. The different sizes of the dots reflect the values of the leaf attributes, where smaller dots represent lower values and larger dots represent higher values. Different lowercase letters denote significant differences (Tukey, $P < 0.05$).

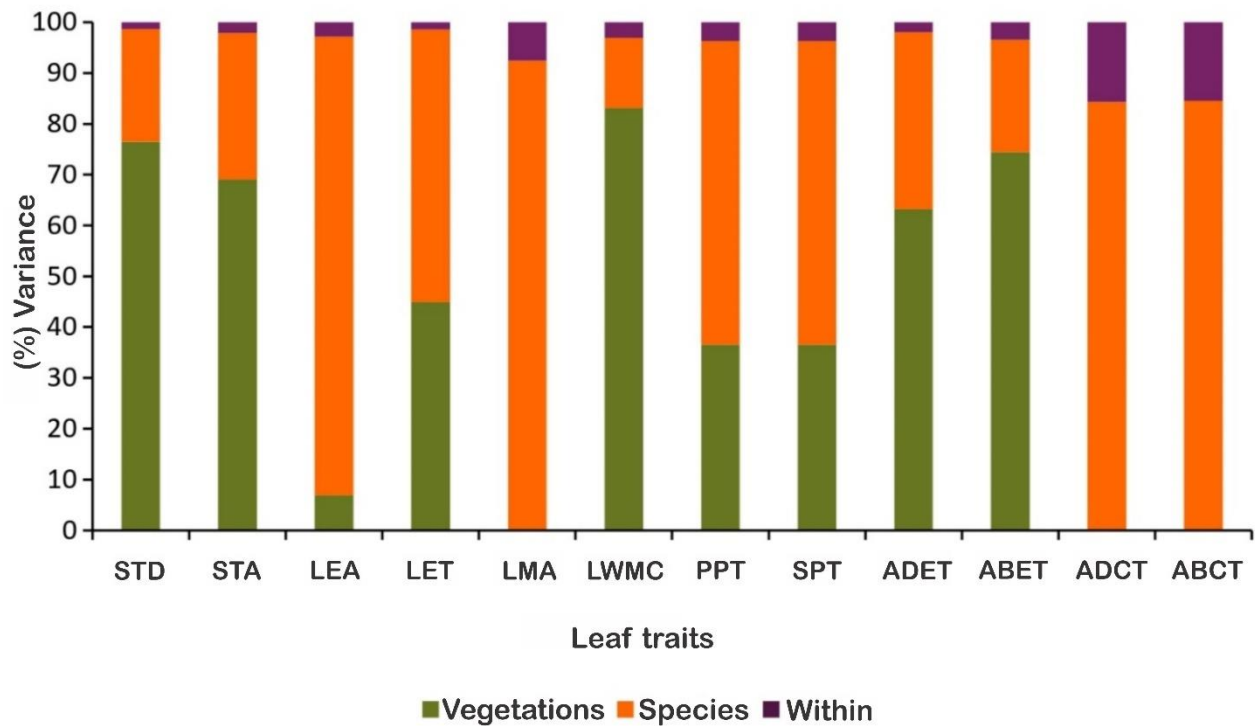


Fig 6 Source of variation of leaf characteristics in the sandbank vegetation types. Decomposition of variance at different ecological scales in vegetation levels (green bars), species (orange bars), and within (residual error, purple) for Stomatal density (STD), Stomatal area (STA), Leaf area (LEA), Leaf thickness (LET), Leaf mass area (LMA), leaf water mass content (LWMC), palisade parenchyma thickness (PPT), spongy parenchyma thickness (SPT), adaxial epidermis thickness (ADET), abaxial epidermis thickness (ABET), adaxial cuticle thickness (ADCT) , abaxial cuticle thickness (ABCT).

4.5 Discussion

In this study, a similarity was observed between the sandbank forest, *Clusia* and beach grass and shrub formations, which may be related to the short distances among the vegetation types and/or being exposed to similar microclimatic conditions. Characteristics such as epidermal cells with straight and thick walls, hypostomatic leaf and thick and striated cuticle helped the species to acclimatize to conditions of high irradiance of these formations. On the other hand, the beach grass formation was separate from the others since this vegetation type is composed of species with exclusive characteristics (e.g., aquiferous parenchyma and a Kranz sheath), facilitating their development in this environment.

Several attributes appear along the vegetation types, which are plant characteristics found in dry environments, for example: epidermal cells with straight and thick walls, a hypostomatic leaf, a thick and striated cuticle, convex periclinal walls, crystals, trichomes, epicuticular wax, and collateral vascular tissue surrounded by perivascular fibers. The straight walls of the epidermal cells, striated cuticle, and epicuticular wax help to reflect light and prevent the mesophyll from heating up by forming a reflective leaf surface (Melo Jr. & Boeger 2018; Ariano et al. 2022). The formation of this reflective surface becomes important for sandbank plants, since a mesophyll receiving an excess of light can cause the degradation of chlorophyll molecules, impairing the capture of light by the antenna complexes and the entire photosynthetic process (Demmig-Adams & Adams 1996).

Crystals act as calcium deposits in various regions of the leaf, such as the mesophyll, veins, and petiole (Bezerra et al. 2020). Furthermore, the ubiquity of calcium crystals in sandbanks plants may represent an important strategy to reduce water loss, avoid photoinhibition and resist drought conditions (Garvie 2006; Brown et al. 2013).

Plants from arid environments such as the sandbanks may invest in the nocturnal construction of calcium crystals, mainly calcium oxalate crystals, to act as subsidiary diurnal sources of CO₂ that will help the plant overall photosynthetic performance independently of the CO₂ atmospheric availability (Tooulakou et al. 2016a). Generally, this CO₂ mobilization from calcium crystals occurs in periods when plants have their stomata closed to avoid water loss and/or when there is a impairment between light reactions and CO₂ fixation (Tooulakou et al. 2016b). In general, calcium crystals support a low photosynthetic rate (± 3 mmol of CO₂ m⁻². s⁻¹ for 4 to 5 hours) aimed only at the maintenance and survival of plants in arid environments, and not the growth itself (Tooulakou et al. 2019). Perhaps this mechanism can explain the large amount of calcium crystals found in most of the species studied in the different types of sandbank vegetation.

Trichomes, in turn, can be tector or glandular, and are common in several plant species; both help to protect against herbivory and store compounds (Silva et al. 2020). In general, glandular trichomes may present phenolic compounds with secretion components (Ventrella et al. 2008), while in tector trichomes the phenolic compounds may be anchored to cell walls through covalent bonds (Karabourniotis et al. 2020). The phenolic compounds present in trichomes can act as protective filters against the action of UV-B radiation, preventing overheating of protoplasts and damage to proteins, lipidic and nucleic acids (Kulbat 2016; Csepregi & Hideg 2018). Glandular trichomes can also have mucilage inside, which characterizes an important strategy for tolerance to dry environments, since the mucilage has water chelating properties (Nguimbou et al. 2014; Ballego-Campos et al. 2020). In addition, tector trichomes can also establish reflective surfaces at high irradiance and establish a humid microclimate on the leaf surface, reducing the difference in leaf-air vapor pressure deficit and consequently reducing water loss by transpiration to the environment (Santos et al. 2016; Pessoa et al. 2019).

According to Cabral et al. (2018), some of these characteristics may be determinants for colonization in different sandbanks communities.

On the other hand, divergent leaf characteristics, such as aquiferous parenchyma, Kranz sheath, bulliform cells and isobilateral mesophyll, demonstrate why the beach grass formation is distinguished from the other formations. The beach grass formation is distinct, with high irradiance, high air humidity, higher incidence of wind, and high salinity. The greater instability in this formation resulted in it being separate from others (Assumpção & Nascimento 2000). For example, Arruda et al. (2009) identified several foliar strategies in a creeping community in the sandbanks, such as the Kranz sheath, which increases carbon uptake in hot and dry environments, and the isobilateral mesophyll, which directs more efficiently light through the palisade, decreasing photoinhibition damage. Furthermore, Viana et al. (2021) describe stomata on both leaf surfaces as a way of surviving in a dry environment, since this reduces the time stomata remain open, which prevents evapotranspiration. According to Arruda et al. (2009), these characteristics are relevant to increase leaf longevity, photosynthetic efficiency and water storage. In this way, the environmental variables on the sea line lead the beach grass formation to develop characteristics that diverge from those in the other formations.

The separation of the beach grass formation from the sandbank forest, *Clusia*, and beach grass and shrub formations were also due to differences in morphoanatomical attributes. Leaf area is generally smaller in environments with high irradiance, since the plant avoids water loss (Melo Jr. & Boeger 2016). This attribute was previously analyzed in different sandbank vegetation types, and individuals in the forest region had leaves with a greater leaf area (Melo Júnior et al. 2019). For example, Pireda et al. (2019) found smaller leaves in a sandbank environment compared to a forest area. However, the beach grass formation had the leaves with the largest leaf area. This is possibly due to the leaves

investing in N_2 since this nutrient is scarce in sandbanks soils. A plant can also invest in leaf area to produce proteins and optimize its photosynthetic capacity (Rêgo et al. 2013). According to Wright et al (2004), an investment in photosynthetic proteins may be important in this formation to increase carbon assimilation. Since the beach grass formation has higher humidity values and lower temperature values and vapor pressure deficit (VPD), the investment in leaf area was beneficial and did not generate excess water loss.

The beach grass community also showed greater leaf thickness, which is due to a greater number of layers of palisade and spongy parenchyma in the mesophyll, favoring light absorption and gas exchange, making photosynthetic processes more efficient (Simioni et al. 2017; Pireda et al. 2019). The presence of a mesophyll with a palisade on both faces (isobilateral) was decisive in this formation (Arruda et al., 2009). For example, Melo Junior et al. (2019) associate thicker leaves with high exposure to irradiance. According to Pireda et al. (2019), a greater thickening of the spongy parenchyma can function as a true mirror chamber for light, directing it to the chloroplasts present in the palisade parenchyma.

The epidermis and cuticle are also associated with thickness. We observe a thick cuticle in all vegetation types, which in turn is formed by lipid substances that reduce cuticular transpiration and protect against the action of winds and fungi (Turner, 1994; Simioni et al. 2017). The epidermal cells may vary according to the light intensity (Rôças et al. 2001). Dickison (2000) reports that thicker epidermal cells can decrease leaf temperature, causing photosynthetic processes to take place, without showing photoinhibition. And according to Kozlowski (1997), the epidermal cells and cuticles of plants that live in an environment with salinity are very thick.

The water content in the leaf was an important attribute, since one of the strategies used by the beach grass formation is storing water in tissues. According to Pireda et al. (2019), thick leaves also end up being succulent to overcome the difficulties imposed by the dry environment. Arruda et al. (2009) also found the presence of aquifer parenchyma and revealed how the plant overcame water scarcity (Viana et al. 2021). The specific leaf mass corresponds to the carbon expenditure in the construction of leaves (John et al. 2017). Generally, leaves with a high specific leaf mass are rigid, scleromorphic, and unpalatable to herbivores due to greater investment in carbon than in nitrogen during leaf formation (Wright et al. 2004). Sandbanks formations may have used a strategy on the leaf surface to avoid insect and microorganism attacks.

Contrary to expectations, taxonomic identity is the factor that mostly controls the variation of leaf morphological and anatomical attributes in the sandbank vegetation types, such as leaf area, specific leaf mass, and adaxial and abaxial cuticles. This variation may be related to competition for resources and limitations in the availability of water (Araújo et al. 2021) and nutrients in a sandbank environment. Furthermore, Emilio et al. (2021) showed that > 70 % of the evaluated attributes (e.g., stomatal length, leaf area, stomatal density, and thickness) in palm leaves are explained at the species-specific level. This variation in leaf attributes is relevant to the distribution of species, promoting adaptations to climate change due to the degradation in a sandbank environment (Bedetti et al. 2011). Therefore, we reveal that the controls (e.g., environmental, and taxonomic) can influence leaf attributes differently as the evaluated biome changes. In the Cerrado, microclimate variations (e.g., environmental control, Araújo et al. 2021) influence leaf characteristics, while in the Atlantic Forest, taxonomic identity (species) is more important in controlling leaf attributes.

4.6 Conclusion

Our results demonstrate that the vegetational types of the Atlantic Forest present broad functional similarity. The plant communities of sandbank forest, *Clusia* formation and beach grass and shrub formation with thickets are sensitive to high temperatures and severe droughts, and thus, will probably be affected as a result of extreme weather events. A tolerance to water stress is the presence of epistomatic leaf, aquiferous parenchyma and large epidermal cells and to heat stress is the presence of bulliform cells, Kranz sheath and absence of petiole are exclusive characteristics of the beach grass community, which helped its separation other vegetation types. Our results therefore indicate expected changes in the distribution and functioning of vegetation types in the Atlantic Forest, characterized by large patches of environmental degradation.

Statements & Declarations

Acknowledgments: We thank Nathan Phillips Smith for linguistic advice and H. Viana for taxonomic classification work. I would also like to thank the LBCT/CBB for all the infrastructure and B.F. Ribeiro for the technical work. Our research license was granted with INEA nº 013/2021. The study is part of Dhiego da Silva Oliveira in the Graduate Program in Biosciences and Biotechnology/UENF.

Funding: The work was supported by the Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) contributing with 3 scholarships and help with laboratory infrastructure. The Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) provided 5 scholarships and help with all the technical equipment. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

Conflict of interest: The authors have not disclosed any competing interests.

Author Contribution Statement: The initial design and conception of the study were carried out by Priscila Fernanda Simioni, Igor Araújo and Saulo Pireda. The identification and collection of material was carried out by Dhiego da Silva Oliveira and Marcos José Gomes Pessoa. Gabriel Amaral Ferreira and Gabriel Silva Oliveira assisted in the morphological and anatomical analyses. The first statistical analyzes were carried out by Saulo Pireda and Rodrigo Barboza Braga Feitoza, and the final analyzes by Igor Araújo. The initial version of the article was written by Dhiego da Silva Oliveira. The final revision was made by Priscila Fernanda Simioni, Igor Araújo and Maura Da Cunha. The authors are in agreement with the article.

Data availability: The data generated from our study are available from our corresponding author (PhD. Maura Da Cunha, mauraenf@gmail.com - UENF - Brazil).

4.7 References

- Amorim MW & Melo Junior JCF (2017) Leaf morphoanatomical plasticity of *Tibouchina clavata* (Melastomataceae) occurring in two restinga formations. *Rodriguesia* 68(2): 545-555. 2017. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201768217>
- Araújo I et al. (2021) Intraspecific variation in leaf traits facilitates the occurrence of trees at the Amazonia–Cerrado transition. *Flora*, v. 279, p. 151829. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151829>
- Araújo I et al. (2022) Leaf functional traits and monodominance in Southern Amazonia tropical forests. *Plant Ecology*, v. 223, n. 2, p. 185-200. <https://doi.org/10.1007/s11258-021-01201-w>

- Ariano APR, Pessoa MJG, Ribeiro-Júnior NG, Eisenlohr PV, Silva IV (2022). Structural leaf attributes indicate different degrees of xeromorphism: New discoveries in co-occurring species of savanna and forest formations. *Flora* 286 (2022) 151972. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151972>
- Arruda RCO, Viglio NSF & Barros AAM (2009). Leaf anatomy of creeping halophytes and psammophiles occurring in the restinga of Ipitangas, Saquarema, Rio de Janeiro, Brazil. *Rodriguesia* 60 (2): 333-352. 2009. <https://doi.org/10.1590/2175-7860200960207>
- Assumpção JAN & Nascimento MT (2000). Structure and floristic composition of four restinga plant formations in the Grussaí/Iquipari lagoon complex, R.J, Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 14: 301-315. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062000000300007>
- Bächtold BA & Melo Junior JCF (2015) Morphological plasticity of *Calophyllum brasiliense* Camb. (Calophyllaceae) in two restinga formations in southern Brazil. *Acta Biológica Catarinense* 2015 Jul-Dec;2(2):21-32. DOI:10.21726/abc.v2i2.165
- Ballego-Campos I, Forzza RC, & Paiva EA (2020). More than scales: Evidence for the production and exudation of mucilage by the peltate trichomes of *Tillandsia cyanea* (Bromeliaceae: Tillandsioideae). *Plants*, 9(6), 763. <https://doi.org/10.3390/plants9060763>
- Bedetti CS, Aguiar DB, Jannuzzi MC, Moura MZ, Silveira FA (2011). Abiotic factors modulate phenotypic plasticity in an apomictic shrub [*Miconia albicans* (SW.) Triana] along a soil fertility gradient in a Neotropical savanna. *Australian Journal of Botany* 59, 274–282. <https://doi.org/10.1071/BT10275>

- Bellard C, Leclerc C, Leroy B, Bakkenes M, Veloz S, Thuiller W, Courchamp F (2014). Vulnerability of biodiversity hotspots to global change. *global ecology and biogeography*. 23:1376–1386. <https://doi.org/10.1111/geb.13272>
- Bezerra LA, Callado CH, Da Cunha M (2020). Does an urban environment affect leaf structure of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae)? *Acta Botanica Brasilica*. <https://doi.org/10.1590/0102-33062019abb0329>
- Borges NL, Pireda S, Oliveira DS et al. The functional variability of the morphoanatomical and physiological traits of native species leaves in a flooded tropical forest. *Trees* (2022). <https://doi.org/10.1007/s00468-022-02332-x>
- Brown SL, Warwick NWM, Prychid CJ. Does aridity influence the morphology, distribution and accumulation of calcium oxalate crystals in *Acacia* (Leguminosae: Mimosoideae)? *Plant Physiol Biochem* 2013; 73:219-28; PMID:24157700; <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.10.006>
- Bündchen M, Boeger MRT, Reissmann CB (2015). Leaf structure of canopy and understory woody species in a subtropical forest in southern Brazil. *Iheringia. Botanica Series* 70, 105–114.
- Cabral RDC, Melo Júnior JCF, Matilde-Silva M (2018). Leaf morphoanatomical plasticity in *Smilax campestris* (Smilacaceae) in restinga environmental gradient, SC, Brazil. *Hoehnea* 45(2): 173-183, 2018. <https://doi.org/10.1590/2236-8906-65/2017>
- Campbell G, Mielke MS, Rabelo GR, Da Cunha M (2018). Key anatomical attributes for occurrence of *Psychotria schlechtendaliana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. (Rubiaceae) in

different successional stages of a tropical moist forest. *Flora*. 246, 33–41.
<https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.07.004>

Cerqueira R (2000). Restinga biogeography. *Ecology of restingas and coastal lagoons*, 1, 65-75.

CNC Flora (2022) National Flora Conservation Center.
<http://www.cncfora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/listavermelha>.

Csepregi K & Hideg É (2018). Phenolic compound diversity explored in the context of photo-oxidative stress protection. *Phytochemical Analysis*, 29(2), 129-136.
<https://doi.org/10.1002/pca.2720>

Da Cunha M, Gomes VM, Xavier Filho J, Attias M, Souza W, Miguens FC (2000). Laticifer system of *Chamaesyce thymifolia*: a closed host environment for trypanosomatids. *Biocell* 24, 123–132.

Demmig-Adams B., Adams W.W. III. (1996) The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science* 1: 21-26.
[https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(96\)80019-7](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(96)80019-7)

Dickison WC (2000). *Integrative Plant Anatomy*. Academic Press, USA.

Emilio T, Pereira H Jr and Costa FRC (2021) Intraspecific Variation on Palm Leaf Traits of Co-occurring Species—Does Local Hydrology Play a Role? *Front. For. Glob. Change* 4:715266. <https://doi.org/10.3389/ffgc.2021.715266>

Esquivel-Muelbert A, Brienens RJW, Baker TR, Dexter KG, Lewis SL, Feldpausch TR, et al. (2019). Compositional response of Amazon forests to climate change. *Glob. Chang. Biol.* 25, 39–56. <https://doi.org/10.1111/gcb.14413>

- Ferreira DF. Multivariate statistics. 1 ed. Lavras: Editora UFLA, 2008. 662p.
- Flora of Brazil (2020) Rio de Janeiro Botanical Garden. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>
- Franklin GL (1945). Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature* 155, 51. <https://doi.org/10.1038/155051a0>
- Garvie LAJ. Decay of cacti and carbon cycling. *Naturwissenschaften* 2006; 93:114-18; PMID:16453105; <http://dx.doi.org/10.1007/s00114-005-0069-7>
- Gratani L, Covone F, Larcher W (2006). Leaf plasticity in response to light of three evergreen species of the Mediterranean maquis. *Trees* 20, 549–558. <https://doi.org/10.1007/s00468-006-0070-6>
- Grime JP (1979). *Plant Strategies and Vegetation Processes*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Johansen DA (1940). *Plant microtechnique*. New York, McGraw-Hill Book Co. Inc., 523p. <https://doi.org/10.1038/147222b0>
- John GP, Scoffoni C, Buckley TN, Villar R, Poorter H, Sack L (2017). The anatomical and compositional basis of leaf mass per area. *Ecol. Lett.* 20, 412–425. <https://doi.org/10.1111/ele.12739>
- Karabourniotis G, Liakopoulos G, Nikolopoulos D & Bresta P (2020). Protective and defensive roles of non-glandular trichomes against multiple stresses: structure–function coordination. *Journal of Forestry Research*, 31(1), 1-12. <https://doi.org/10.1007/s11676-019-01034-4>

- Karnovsky MJ (1965). A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electronmicroscopy. *J Cell Biol.* 27, 137–138A.
- Kluge M & Ting IP (1978). *Crassulacean Acid Metabolism: Analysis of an Ecological Adaptation*. Berlin, Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-67038-1>
- Koppen W (1948). *Climatologia: conunestudio de los climas de latierra*. Fondo de Cultura Econômica. México. 479p
- Kozlowski TT (1997). Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree Physiology, Monography 1*: 1-29. <https://doi.org/10.1093/treephys/17.7.490>
- Kraus JE, Sousa HC, Rezende MH, Castro NM, Vecchi C, Luque R (1998) Astra blue and basic fuchsin double staining of plant materials. *Biotechnic and Histochemistry*, 73, 235–243. <https://doi.org/10.3109/10520299809141117>
- Kubalt K (2016). The role of phenolic compounds in plant resistance. *Biotechnology and Food Science* Vol. 80, nr 2 | 97-108
- Lance GN, Williams WTA. General Theory of Classificatory Sorting Strategies. 1. Hierarchical Systems, *Computer Journal*, v.9, p. 373-380, 1967. <https://doi.org/10.1093/comjnl/9.4.373>
- Levene H (1961). Robust tests for equality of variances. *Contributions to probability and statistics. Essays in honor of Harold Hotelling* 279–292. <https://doi.org/10.2307/2285659>
- Magnago, L.F.S., Rocha, M.F., Meyer, L., Martins, S.V. & Meiraneto, J.A.A. 2015. Microclimatic conditions at forest edges have significant impacts on vegetation

structure in large Atlantic forest fragments. *Biodiversity and Conservation*, 24, 2305–2318. <https://doi.org/10.1007/s10531-015-0961-1>

Melo Jr JCF, Boeger MRT (2016). Leaf traits and plastic potential of plant species in a light-edaphic gradient from a Restinga in southern Brazil. *Acta biol. Colomb.* 2016;21(1):51-62. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15446/abc.v21n1.47621>

Melo Jr JCF, Boeger MRT (2018). Richness and structure of a dune plant community in the coastal plain of Santa Catarina. *Iheringia. Botanical Series* 73, 290-297. <https://doi.org/10.21726/abc.v3i1.427>

Melo Junior JCF, Gonçalves TM, Jardim RIL (2019) Structural adaptations and plastic potential of *Schinus terebinthifolia* Raddi. (Anacardiaceae) in different restinga formations. *Brazilian Journal of Physical Geography* v.12, n.06 (2019) 2218-2238. <https://doi.org/10.26848/rbgf.v12.6.p2218-2238>

Murray-Smith, C.; Brummitt, N.A.; Filho, A.T.O.; Bachman, S.; Moat, J.; Lughadha, E.M.; Lucas, E.J. 2009. Plant Diversity Hotspots in the Atlantic Coastal Forests of Brazil. *Conservation Biology* p 151-163. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.01075.x>

Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403:853-858. <https://doi.org/10.1038/35002501>

Nguimbou RM, Boudjeko T, Njintang NY, Himeda M, Scher J & Mbofung CM (2014). Mucilage chemical profile and antioxidant properties of giant swamp taro tubers. *Journal of food science and technology*, 51(12), 3559-3567. <https://doi.org/10.1007/s13197-012-0906-6>

- Niinemets Ü (2001). Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area density, and thickness in trees and shrubs. *Ecol.* 82, 453–469. <https://doi.org/10.2307/2679872>
- Oliveira I, Meyer A, Afonso S, Gonçalves B (2018). Compared leaf anatomy and water relations of commercial and traditional *Prunus dulcis* (Mill.) cultivar under rain-fed conditions. *Sci. Hortic.* 229, 226–232. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.11.015>
- Pallardy SG (1981). Closely related woody plants. In: Kozlowski, T.T. (Ed.), *Water Deficits and Plant Growth*. Academic Press, New York, pp. 511–548.
- Pearce DW, Millard S, Bray DF, Rood SB (2006). Stomatal characteristics of riparian poplar species in a semi-arid environment. *Tree Physiology* 26, 211–218. <https://doi.org/10.1093/treephys/26.2.211>
- Perez-Harguindeguy N, Díaz S, Garnier E, Lavorel S, Poorter H, Jaureguiberry P et al. (2013). New Handbook for standardized measurement of plant functional traits worldwide. *Aust. J. Bot.* 61, 167–234. https://doi.org/10.1071/BT12225_CO
- Pessoa MJG, Guisoni JJ, Simioni P, Pireda S, Xavier V, Silva IV (2019) Leaf structural characteristics of three species of *Qualea* Mart. (Vochysiaceae) in a cerrado area in the Cerrado-Amazon Forest transition *Forest Science.*, 29, pp. 1082 – 1089. <https://doi.org/10.5902/1980509833080>
- Pessoa MJG, Pireda S, Simioni PF, Bautz N, Da Cunha M (2021). Structural and histochemical attributes of secretory ducts and cavities in leaves of four species of Calophyllaceae J. Agardh in Amazonian savannas. *Plant Biol.* <https://doi.org/10.1111/plb.13321>

Pireda S, Oliveira DO, Borges NL, Amaral GF, Barroso LM, Simioni P, Vitória AP, Da Cunha M (2019). Acclimatization capacity of leaf traits of species co-occurring in restinga and seasonal semideciduous forest ecosystems. *Environmental and Experimental Botany* 164. 190–202. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.05.012>

Pireda S, Oliveira DO, Borges NL, Amaral GF, Barroso LM, Simioni P, Vitória AP, Da Cunha M (2020). Data on leaf structural, physiological and nutritional characteristics of species co-occurring in restinga and semideciduous seasonal forest ecosystems. *Data in Brief* 30 (2020) 105484. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.105484>

R Core Team (2022). R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.

Rasband WS (1997–2008). ImageJ. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, MA, United States. Available online at: <https://imagej.nih.gov/ij/>

Rego Mendes K, Marengo RA & dos Santos Magalhães N (2013). Growth and photosynthetic efficiency of nitrogen and phosphorus use in juvenile Amazon forest species. *Tree Magazine*, 37(4). <https://doi.org/10.1590/S0100-67622013000400014>

Reich PB, Walters MB, Ellsworth DS (1992) Leaf life-span in relation to leaf, plant, and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecological Monographs*, [S. 1.], v. 62, n. 3, p. 365–392, 1992. <https://doi.org/10.2307/2937116>

Rezende CL et al. (2018). From hotspot to hopespot: An opportunity for the Brazilian Atlantic Forest. *Perspectives in Ecology and Conservation* 16: 208–214. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2018.10.002>

- Ribeiro, M.C., Metzger, J.P., Martensen, A.C., Ponzoni, F., Hirota, M.M., 2009. Brazilian Atlantic forest: how much is left and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation* 142: 1141–1153. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.021>
- Rôças G, Scarano FR, Barros CF (2001). Leaf anatomical variation in *Alchornea triplinervia* (Spreng.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae) under distinct light and soil water regimes. *Bot. J. Linn. Soc.* 136, 231–238. <https://doi.org/10.1006/bojl.2000.0430>
- Rosas T, Mencuccini M, Barba J, Cochard H, Saura-Mas S, Martínez-Vilalta J (2019). Adjustments and coordination of hydraulic, leaf and stem traits along a water availability gradient. *New Phytologist* 223, 632–646. <https://doi.org/10.1111/nph.15684>
- Rossatto D R, Kolb RM (2013) Leaf anatomical traits are correlated with tree 32 dominance in a neotropical deciduous forest. *New Zealand Journal of Botany*, [S. l.], v. 51, n. 4, p. 242–251. <https://doi.org/10.1080/0028825X.2013.795904>
- Rozendaal DMA, Hurtado VH, Poorter L (2006) Plasticity in leaf traits of 38 tropical tree species in response to light; relationships with light demand and adult stature. *Functional Ecology*, [S. l.], v. 20, n. 2, p. 207–216. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2006.01105.x>
- Santos MS et al. (2016) Effects of water deficit on morphophysiology, productivity and chemical composition of *Ocimum africanum* Lour (Lamiaceae). *African Journal of Agricultural Research*, [s. l.], v. 11, n. 21, p. 1924-1934. <https://doi.org/10.5897/AJAR2015.10248>

- Scarano FR (2002). Structure, function and floristic relationships of plant communities in stressful habitats marginal to the Brazilian Atlantic rain forest. *Annals of Botany* 90: 517–524. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf189>
- Scarano FR e Ceotto P (2015). Brazilian Atlantic forest: impact, vulnerability, and adaptation to climate change. *Biodivers Conserv* (2015) 24: 2319–2331. <https://doi.org/10.1007/s10531-015-0972-y>
- Shapiro SS, Wilk MB (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52, 591–611. <https://doi.org/10.2307/2333709>
- Silva SM (1999). Diagnosis of restingas in Brazil. In: Assessment and priority actions for the conservation of the coastal and marine zone. Bio Rio Foundation, Porto Seguro.
- Silva LC, Freitas-Silva L, Rocha DI et al. (2020) Leaf Morpho-anatomical Structure Determines Differential Response Among Restinga Species Exposed to Emissions from an Iron Ore Pelletizing Plant. *Water Air Soil Pollut* 231, 152. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04533-x>
- Simioni PF, Eisenlohr PV, Pessoa MJG, Silva IV (2017) Elucidating adaptive strategies from leaf anatomy: do Amazonian savannas present xeromorphic characteristics? *Flora*, 226, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2016.11.004>
- SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. (2019-2020). Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica.
- Sultan SE (2000). Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Sci.* 5, 537–542. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01797-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01797-0)

- Tooulakou G, Giannopoulos A, Nikolopoulos D, Bresta P, Dotsika E, Orkoula MG, Karabourniotis, G. (2016a). Alarm photosynthesis: calcium oxalate crystals as an internal CO₂ source in plants. *Plant Physiology*, 171(4), 2577-2585. <https://doi.org/10.1104/pp.16.00111>
- Tooulakou G, Giannopoulos A, Nikolopoulos D, Bresta P, Dotsika E, Orkoula MG, Karabourniotis G (2016b). Reevaluation of the plant “gemstones”: Calcium oxalate crystals sustain photosynthesis under drought conditions. *Plant signaling & behavior*, 11(9), 00111. <https://doi.org/10.1080/15592324.2016.1215793>
- Tooulakou G, Nikolopoulos D, Dotsika E, Orkoula MG, Kontoyannis CG, Liakopoulos G, Karabourniotis, G (2019). Changes in size and composition of pigweed (*Amaranthus hybridus* L.) calcium oxalate crystals under CO₂ starvation conditions. *Physiologia plantarum*, 166(3), 862-872. <https://doi.org/10.1111/ppl.12843>
- Turner IM (1994). Sclerophylly: primarily protective? *Functional Ecology* 8, 669–675.
- Urban MC (2015). Accelerating extinction risk from climate change. *Science*, 348(6234), 571-573.
- Ventrella MC & Marinho CR (2008). Morphology and histochemistry of glandular trichomes of *Cordia verbenacea* DC. (Boraginaceae) leaves. *Brazilian Journal of Botany*, 31, 457-467. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042008000300010>
- Viana A, Freitas EM, Martins S (2021) Morphology, anatomy and ultrastructure of the leaf blade in *Froelichia tomentosa* (Mart.) Moq. (Amaranthaceae A. Juss): - a critically endangered species in Brazil. *Ciência e Natura*, Santa Maria, v. 43, e26, p. 1-19. <https://doi.org/10.5902/2179460X40503>

- Villela DM, Silva AP, Bonadiman GSL, Souza AS, Pires RS (2020) *Clusia hilariana*, a key species on nutrient cycling in sand dune vegetation thickets. *O ecol. Aust.* 24(2):420–437. <https://doi.org/10.4257/oeco.2020.2402.13>
- Westoby M (1998). A leaf–height–seed (LHS) plant ecology strategy scheme. *Plant and Soil* 199, 213–227. <https://doi.org/10.1023/A:1004327224729>
- Weyers JDB, Meidner H (1990). *Methods in Stomatal Research*. Longman, Harlow
- Wright I, Reich P, Westoby M et al. (2004) The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* 428, 821–827. <https://doi.org/10.1038/nature02403>

4.8 Appendix

Effects of microclimatic variation on plant leaf traits at the community level along a tropical forest gradient

Oliveira, Dhiego da Silva¹; Simioni, Priscila Fernanda²; Araújo, Igor⁴; Pireda, Saulo²; Pessoa, Marcos José Gomes⁵; Feitoza, Rodrigo, Barbosa Braga¹; Oliveira, Gabriel Silva¹; Amaral, Gabriel Ferreira³; Da Cunha, Maura¹

¹Graduate Program in Biosciences and Biotechnology – State University of Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil. diego_oliveira_3586@yahoo.com.br; rodrigo-ita@hotmail.com; gabriel9963@hotmail.com; maurauenf@gmail.com

²Graduate Program in Ecology and Natural Resources - State University of Norte Fluminense Darcy - Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil. priscila-simioni@hotmail.com; saulopireda@hotmail.com

³Graduate Program in Plant Biology/State University of Rio de Janeiro, RJ, Brazil. gabriel.amaral0@hotmail.com

⁴Graduate Program in Ecology and Conservation - State University of Mato Grosso, Campus Nova Xavantina, Nova Xavantina, MT, Brazil. igor.araujo@outlook.com.br

⁵State University of Mato Grosso, Campus Alta Floresta, Alta Floresta, MT, Brazil. marcos-af@hotmail.com

*Corresponding author: Maura Da Cunha; maurauenf@gmail.com

(Text S1) Morphoanatomical characterization of the leaf blade

Paradermic sections

SANDBANK FOREST: For *C. flexuosa*, *S. obtusifolium* and *S. arenicola*, the small epidermal cells had straight and thick walls (Figure S1a); only *P. heptaphyllum* had epidermal cells with sinuous walls (Figure S1b). Hypostomatic leaves with paracytic stomata were observed in *C. flexuosa*, *S. obtusifolium*, and *P. heptaphyllum* (Figure S1c). However, *S. arenicola* had an amphistomatic leaf with anomocytic stomata (Figure S1d). *S. obtusifolium* had ornamentation on the external periclinal wall around the stomata (Figure S1e), and *C. flexuosa* had stomata inside depressions in the wall (Figure S1f). CLUSIA FORMATION: In *C. hilariana* and *P. glabrata*, the small epidermal cells had straight and thick walls. However, *I. maritima* had cells with sinuous walls (Figure S1g). The species in this community had hypostomatic leaves (Figure S1h). BEACH GRASS AND SHRUB FORMATION: Small epidermal cells with straight and thick walls were observed in *S. terebinthifolia* and *V. curassavica*. However, *E. uniflora* had sinuous epidermal cells (Figure S1i). In addition, all species in this community had hypostomatic leaves (Figure S1j). BEACH GRASS FORMATION: Both species had large epidermal cells with thick straight walls (Figure S1k). *I. imperati* had an amphistomatic leaf (Figure

S1l), while *B. portulacoides* had an epistomatic leaf; both species had paracytic stomata. This last feature was exclusive to the other species studied (Figure S1m).

Micromorphological analyses revealed abundant epicuticular wax, a striated cuticle (Figure S1n), and fungi and bacteria in all species of the sandbank forest (Figure S1o) and *Clusia* formation (Figure S1p). In the beach grass formation were observed epicuticular wax and striations cuticle in *S. terebinthifolia* and *E. uniflora* (Figure S1q). *V. curassavica* did not exhibit these characteristics; however, many trichomes were observed on both leaf surfaces (Figure S1r) and the adaxial surface was papillose (Figure S1s). In both species of the beach grass formation, epicuticular wax and a striated cuticle were evident (Figure S1t).

Mesophyll

SANDBANK FOREST: *C. flexuosa*, *S. obtusifolium* and *P. heptaphyllum* had dorsiventral mesophyll (Figure S2a), and *S. arenicola* had isobilateral mesophyll (Figure S2b). *C. flexuosa*, *S. obtusifolium*, and *S. arenicola* had a uniseriate epidermis with convex periclinal walls and subepidermal layers (Figure S2c). *C. flexuosa* and *S. arenicola* had thick cuticles. *P. heptaphyllum* had epidermal cells with straight periclinal walls and a sclerenchymatic sheath extending to the adaxial epidermis (Figure S2d). One to three layers of palisade parenchyma and up to five layers of spongy parenchyma were observed in *P. heptaphyllum*, *C. flexuosa*, and *S. obtusifolium*. In *S. arenicola*, four to six layers of palisade parenchyma and up to eight layers of spongy parenchyma were observed. CLUSIA FORMATION: The three species in this community had dorsiventral mesophyll. *I. maritima* and *P. glabrata* had convex periclinal walls, one to three layers of palisade parenchyma, and one to five layers of spongy parenchyma (Figure S2e). In contrast, *C. hilariana* had straight periclinal walls, subepidermal layers, the presence of crystals and ducts and/or cavities, and thicker palisade parenchyma and spongy parenchyma (Figure S2f). Thick cuticles were observed in the three species (Figure S2g). BEACH GRASS AND SHRUB FORMATION: All species have a dorsiventral mesophyll (Figure S2h), with one to three layers of palisade parenchyma and the presence of crystals. *S. terebinthifolia* had a subepidermal layer (Figure S2i), and *E. uniflora* had cavities and/or secretory ducts in the mesophyll, midrib, and petiole. *V. curassavica* had some unique characteristics in the beach grass and shrub formation with thickets, such as thick cuticles, stomata inside crypts, and tector and glandular trichomes on the adaxial

and abaxial surfaces (Figure S2j, k). BEACH GRASS FORMATION: *I. imperati* had isobilateral mesophyll (Figure S2l), while *B. portulacoides* had dorsiventral mesophyll (Figure S2m).

Both species had thick cuticles, convex periclinal walls, aquiferous parenchyma, and crystals. *B. portulacoides* had a Kranz sheath and invested little in palisade parenchyma; more than 50% of the mesophyll was aquifer parenchyma (Figure S2n, o). *I. imperati*, in turn, invested more in palisade parenchyma and spongy parenchyma, and it also developed structures for water storage (Figure S2p).

Midrib and petiole

SANDBANK FOREST: A midrib and petiole with a plano-convex outline were present in *C. flexuosa*, *S. obtusifolium*, and *S. arenicola* (Figure S3a). Collenchyma was present in *P. heptaphyllum* and *S. arenicola*. All species of the Sandbanks forest had collateral vascular bundles in the vein and petiole. All bundles were surrounded by perivascular fibers (Figure S3b). *P. heptaphyllum* and *S. obtusifolium* had cavities and/or secretory ducts, and we observed laticifers in *S. obtusifolium* (Figure S3c). Trichomes were abundant on the petiole of all species of this vegetation type (Figure S3d). CLUSIA FORMATION: The midrib and petiole of all species of this vegetation type had a collateral vascular bundle, which was continuous and surrounded by perivascular fibers, as well as crystals (Figure S3e). *I. maritima* had a concave-convex midrib and a petiole with angular collenchyma and trichomes (Figure S3f). *C. hilariana* had crystals, laticifers and annular collenchyma, while *P. glabrata* had a flat-convex petiole with crystals and trichomes (Figure S3g, h). BEACH GRASS AND SHRUB FORMATION: The midrib region of *S. terebinthifolia* and *E. uniflora* had a flat-convex shape (Figure S3i); it was concave-convex shaped in *V. curassavica* (Figure S3j). In all species, a collateral vascular bundle was found in the petiole and midrib, showing the presence of crystals (Figure S3k). *S. terebinthifolia* and *E. uniflora* had annular collenchyma, and *V. curassavica* had angular collenchyma (Figure S3l). Trichomes were observed on the petiole of *S. terebinthifolia* and *V. curassavica* (Figure S3m). BEACH GRASS FORMATION: *B. portulacoides* did not have a petiole; the leaf was sessile. In this species, the central vein had a flat contour and collateral vascular bundle (Figure S3n). *I. imperati* had a bicollateral vascular bundle and angular collenchyma in the midrib and petiole (Figure S3o). Laticifers and bulliform cells were also found in this species (Figure S3p).

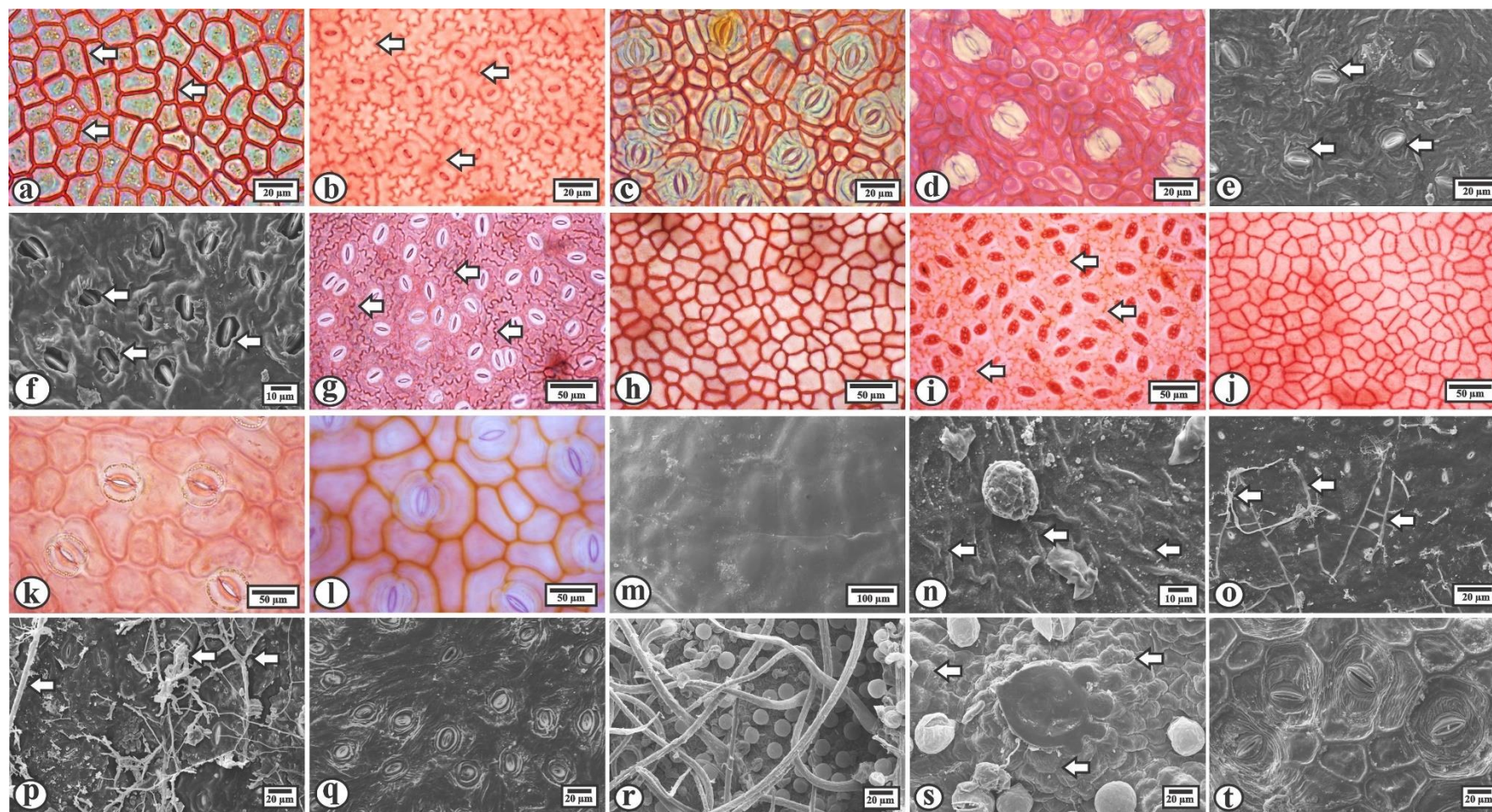


Fig S1 Paradermic sections and micromorphological images of the species in the sandbank vegetation types. **(a)** Straight and thick adaxial wall of *S. obtusifolium* in the sandbank forest (shown by white arrows); **(b)** Sinuous abaxial wall in *P. heptaphyllum* in the sandbank forest (shown by white arrows); **(c)** Hypostomatic leaf (abaxial surface) of *S. obtusifolium* in the sandbank forest; **(d)** Amphistomatic leaf (adaxial surface) of *S. arenicola* in the sandbank forest; **(e)** Wall ornamentation around the stomata of *S. obtusifolium* in the sandbank forest (shown by white arrows); **(f)** Epidermal depressions in *C. flexuosa* in the sandbank forest (shown by white arrows); **(g)** Sinuous abaxial wall of *I. maritime* in the *Clusia* formation (shown by white arrows); **(h)** Hypostomatic leaf (adaxial surface) of *P. glabrata* in the *Clusia* formation; **(i)** Sinuous abaxial wall in *E. uniflora* in the

beach grass and shrub formation (shown by white arrow); **(j)** Hypostomatic leaf (adaxial surface) of *S. terebinthifolia* in the beach grass and shrub formation; **(k)** Straight and thick adaxial wall of *B. portulacoides* in the beach grass formation; **(l)** Amphistomatic leaf (adaxial surface) of *I. imperati* in the beach grass formation; **(m)** Epistomatic leaf (adaxial surface) of *B. portulacoides* in the beach grass formation; **(n)** Striated cuticle and wax on the adaxial surface of *C. flexuosa* in the sandbank forest (shown by white arrows); **(o)** Microorganisms on the abaxial surface of *P. heptaphyllum* in the sandbank forest (shown by white arrows); **(p)** Microorganisms on the abaxial surface of *I. maritime* in the *Clusia* formation (shown by white arrows); **(q)** Cuticular ornamentation around the stomata on the abaxial leaf surface of *S. terebinthifolia* in the beach grass and shrub formation; **(r)** Trichomes on the abaxial surface of *V. curassavica* in the beach grass and shrub formation; **(s)** Papillose adaxial epidermis of *V. curassavica* in the beach grass and shrub formation (shown by white arrows); **(t)** Striated cuticle and wax (adaxial surface) of *I. imperati* in the beach grass formation. Bars: 100µm: m; 50µm: g, h, i, j, k, l; 20µm: a, b, c, d, e, o, p, q, r, s, t; 10µm: f, n.

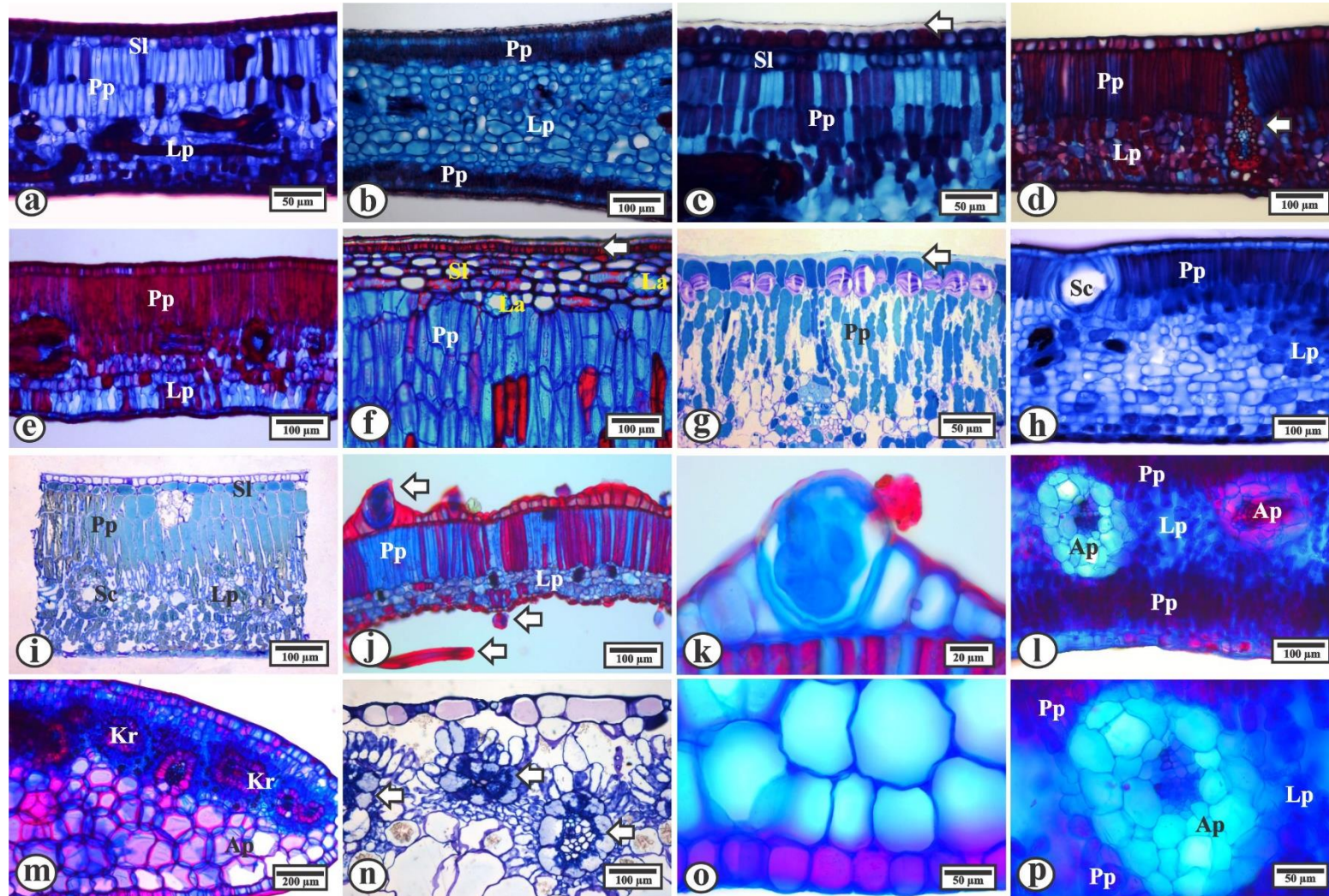


Fig S2 Transversal sections of the leaf blade of the species in the sandbank vegetation types. **(a)** Dorsiventral mesophyll of *S. obtusifolium* in the sandbank forest; **(b)** Isobilateral mesophyll of *S. arenicola* in the sandbank forest; **(c)** Thick cuticle of *C. flexuosa* in the sandbank forest (shown by white arrows); **(d)** Sclerenchymatic sheath of *P. heptaphyllum* in the sandbank forest (shown by white arrows); **(e)** Dorsiventral mesophyll of *I. maritima* in the *Clusia* formation; **(f)** Subepidermal layer of *C. hilariana* in the *Clusia* formation

(shown by white arrows); **(g)** Thick cuticle of *P. glabrata* in the *Clusia* formation (shown by white arrows); **(h)** Dorsiventral mesophyll of *E. uniflora* in the beach grass and shrub formation; **(i)** Subepidermal layer of *S. terebinthifolia* in the beach grass and shrub formation; **(j)** Tector and glandular trichomes of *V. curassavica* in the beach grass and shrub formation (shown by white arrows); **(k)** Secreting epidermal cell of *V. curassavica* in the beach grass and shrub formation; **(l)** Isobilateral mesophyll of *I. imperati* in the beach grass formation; **(m)** Dorsiventral mesophyll of *B. portulacoides* in the beach grass formation; **(n)** Kranz sheath of *B. portulacoides* in the beach grass formation (shown by white arrows); **(o)** Aquiferous parenchyma of *B. portulacoides* in the beach grass formation; **(p)** Aquiferous parenchyma of *I. imperati*. Aquiferous parenchyma (Ap); Collenchyma (Co); Perivascular fibers (Fi); Kranz sheath (Kr); Spongy parenchyma (Lp); Phloem (Ph); Palisade parenchyma (Pp); Secretary cell (Sc); Subepidermal layer (Sl); Xylem (Xy). Bars: 200 μ m: m; 100 μ m: b, d, e, f, h, i, j, l, n; 50 μ m: a, c, g, o, p; 20 μ m: k.

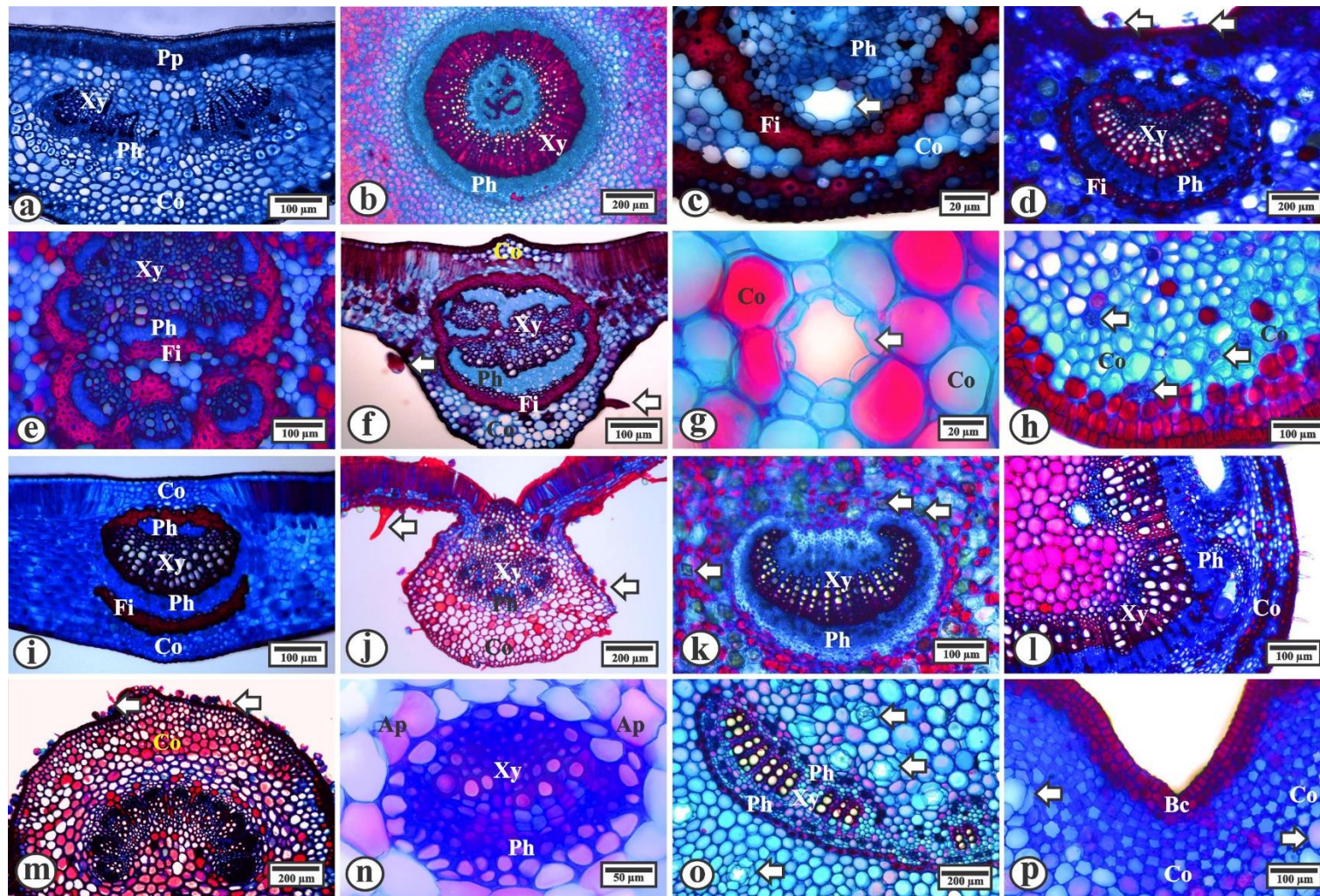


Fig S3 Transversal sections of the midrib and petiole of the species in the sandbank vegetation types. **(a)** Flat-convex contour midrib of *S. arenicola* in the sandbank forest; **(b)** Collateral bundle in petiole of *C. flexuosa* in the sandbank forest; **(c)** Secretory cavity in the vein of *P. heptaphyllum* in the sandbank forest (shown by white arrows); **(d)** Petiole with trichomes in *S. obtusifolium* in the sandbank forest (shown by white arrows); **(e)** Midrib with collateral bundle and fibers in *C. hilariana* in the *Clusia* formation; **(f)** Plano-convex contour midrib of *I.*

maritima with trichomes in the *Clusia* formation (shown by white arrows); **(g)** Laticifers in the midrib of *C. hilariana* in the *Clusia* formation (shown by white arrows); **(h)** Petiole with crystals in *P. glabrata* in the *Clusia* formation (shown by white arrows); **(i)** Plano-convex vein of *E. uniflora* in the beach grass and shrub formation; **(j)** Concave-convex vein with trichomes of *V. curassavica* in the beach grass and shrub formation (shown by white arrows); **(k)** Petiole with collateral bundle of *E. uniflora* in the beach grass and shrub formation (shown by white arrows); **(l)** Petiole with collenchyma and trichomes of *S. terebinthifolia* in the beach grass and shrub formation; **(m)** Petiole with trichomes of *V. curassavica* in the beach grass and shrub formation (shown by white arrows); **(n)** Vein with collateral bundle of *B. portulacoides* in the beach grass formation; **(o)** Petiole with collateral bundle of *I. imperati* in the beach grass formation (shown by white arrows); **(p)** Bulliform and laticifers cells in the petiole of *I. imperati* in the beach grass formation (shown by white arrows). Aquiferous parenchyma (Ap); Bulliform Cells (Bc); Collenchyma (Co); Perivascular fibers (Fi); Kranz sheath (Kr); Spongy parenchyma (Lp); Phloem (Ph); Palisade parenchyma (Pp); Secretory cell (Sc); Subepidermal layer (Sl); Xylem (Xy). Bars: 200µm: b, d, j, m, o; 100µm: a, e, f, h, i, k, l, p; 50µm: n; 20µm: c, g.

Tab S1 Presence/absence matrix of leaf attributes in the sandbank vegetation types. This table was built for the UPGMA analyses. Attribute present in the species (x); Attribute absent in the species ().

Attributes/Species		Forest				Clusia			Bush			Beach Grass	
		<i>P. heptaphyllum</i>	<i>C. flexuosa</i>	<i>S. obtusifolium</i>	<i>S. arenicola</i>	<i>C. hilariana</i>	<i>I. maritima</i>	<i>P. glabrata</i>	<i>S. terebinthifolius</i>	<i>E. uniflora</i>	<i>V. curassavica</i>	<i>I. imperati</i>	<i>B. portulacoides</i>
Paradermal Sections	Straight wall epidermic cells		x	x	x	x		x	x	x	x	x	
	Sinuous wall epidermic cells	x					x		x				
	Thicker wall epidermic cells		x	x	x	x		x	x	x	x	x	
	Smaller epidermal cells	x	x	x	x	x	x	x	x	x			
	Larger epidermal cells										x	x	
	Hypostomatic leaf	x	x	x		x	x	x	x	x	x		
	Amphistomatic leaf				x							x	
Epistomatic leaf												x	
Leaf Blade	Dorsiventral mesophyll	x	x	x		x	x	x	x	x	x	x	
	Isobilateral mesophyll				x						x		
	Unisseriate epidermis	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
	Thick cuticle		x		x	x	x			x	x	x	
	Straight periclinal wall	x				x							
	Convex periclinal wall		x	x	x		x	x	x	x	x	x	
	Stomatal crypts									x			
	Subepidermal layer		x	x	x	x			x				
	Sclerenchymatic sheath	x											
	Kranz's sheath											x	
	One to three layers of palisade parenchyma	x	x	x			x	x	x	x	x	x	
	Four to six layers of palisade parenchyma				x	x						x	
	One to five layers of spongy parenchyma	x	x	x			x	x			x	x	
	Six to twelve layers of spongy parenchyma				x	x				x		x	
	Aquifer parenchyma											x	x
	Ducts or cavities					x			x	x			
	Presence of crystals			x	x	x		x	x	x	x	x	x
	Trichomes on the adaxial and/or abaxial surface										x		
	Paracytic stomata	x				x	x	x		x		x	x
	Anomocytic stomata		x		x				x		x		
Actinocytic stomata			x										
Midrib	Plano-convex contour		x	x	x	x			x	x		x	
	Concave-convex contour						x			x			
	Biconvex contour	x						x					
	Flat contour											x	
	Angular collenchyma		x				x			x	x		
	Ring Collenchyma	x			x	x			x	x			
	Lacunar Collenchyma			x				x					
Collenchyma Absent												x	

	Collateral vascular bundle	x	x		x	x	x	x		x			x
	Bicolateral vascular bundle			x					x				x
	Continuity of the parenchyma		x		x	x							x
	Bulliform cells												x
	Ducts or cavities	x		x		x			x	x			
	Laticifers			x		x							x
	Perivascular fibers	x	x	x	x	x	x	x		x			
	Presence of crystals	x		x	x	x		x	x	x	x	x	x
	Presence of trichomes			x			x				x		
Petiole	Without petiole												x
	Plano-convex contour	x		x	x	x		x		x			
	Concave-convex contour		x				x				x		x
	Biconvex contour								x				
	Flat contour												
	Angular collenchyma		x				x				x		x
	Ring Collenchyma	x			x	x			x	x			
	Lacunar Collenchyma			x				x					
	Collenchyma Absent												
	Collateral vascular bundle	x	x		x	x	x	x	x		x		
	Bicolateral vascular bundle			x						x			x
	Continuous Vascular Bundle	x	x		x	x	x	x					
	Bulliform cells												x
	Ducts or cavities	x		x		x			x	x			
	Laticifers			x		x							x
	Perivascular fibers	x		x			x				x		
	Presence of crystals			x	x	x		x	x	x			x
	Presence of trichomes	x	x	x	x		x	x	x		x		
	Micromorphology	Presence of epicuticular wax on the adaxial surface			x			x		x			
Presence of epicuticular wax on both sides		x	x		x	x		x		x		x	x
Without the presence of epicuticular wax											x		
Stomata below epicuticular wax			x										
EPP ornamentation around the stomata				x					x				x
Striated cuticle on the abaxial surface		x	x	x	x	x	x	x	x	x			x
Striated cuticle on the adaxial surface		x	x	x	x		x	x	x	x			x
Papillose adaxial surface											x		
Presence of bacteria and/or fungi		x	x	x	x	x	x	x		x			
Presence of trichomes										x			

Tab S2 ANOVA table on the influence of the vegetation (VE) and species (SP) leaf morphological and anatomical characteristics in the sandbank vegetation types. Stomatal density (STD), stomatal area (STA), leaf area (LEA), leaf thickness (LET), leaf mass area (LMA), leaf water mass content (LWMC), palisade parenchyma thickness (PPT), spongy parenchyma thickness (SPT), adaxial epidermis thickness (ADET), abaxial epidermis thickness (ABET), adaxial cuticle thickness (ADCT) and abaxial cuticle thickness (ABCT).

Trait	Source of variation	DF	F	P
STD	VE	3	469.49	< 0.0001
	SP	8	97.16	< 0.0001
	Error	48		
STA	VE	3	431.46	< 0.0001
	SP	8	73.52	< 0.0001
	Error	48		
LEA	VE	3	83.30	< 0.0001
	SP	8	75.57	< 0.0001
	Error	48		
LET	VE	3	1755.5	< 0.0001
	SP	8	645.7	< 0.0001
	Error	48		
LMA	VE	3	134.6	< 0.0001
	SP	8	143.8	< 0.0001
	Error	48		
LWMC	VE	3	263.29	< 0.0001
	SP	8	30.49	< 0.0001
	Error	48		
PPT	VE	3	340.8	< 0.0001
	SP	8	211.0	< 0.0001
	Error	48		
SPT	VE	3	316.9	< 0.0001
	SP	8	422.9	< 0.0001
	Error	48		
ADET	VE	3	754.2	< 0.0001
	SP	8	105.5	< 0.0001
	Error	48		
ABET	VE	3	305.55	< 0.0001
	SP	8	28.51	< 0.0001
	Error	48		
ADCT	VE	3	15.00	0.0001
	SP	8	24.12	< 0.0001
	Error	48		
ABCT	VE	3	19.21	0.0001
	SP	8	31.36	< 0.0001
	Error	48		

Tab S3 Results of the variance decomposition (%) in vegetations and species levels for morphological and anatomical leaf characteristics of trees in sandbank vegetation types. Stomatal density (STD), stomatal area (STA), leaf area (LEA), leaf thickness (LET), leaf mass area (LMA), leaf water mass content (LWMC), palisade parenchyma thickness (PPT), spongy parenchyma thickness (SPT), adaxial epidermis thickness (ADET), abaxial epidermis thickness (ABET), adaxial cuticle thickness (ADCT) and abaxial cuticle thickness (ABCT). Within (residual error), all data were transformed (log-10) before analysis.

Traits	Vegetations	Species	Within
STD	76.51	22.14	1.35
STA	69.06	28.81	2.13
LEA	6.92	90.27	2.81
LET	44.95	53.67	1.38
LMA	0.00	92.47	7.53
LWMC	83.10	13.83	3.07
PPT	36.57	59.74	3.69
SPT	36.57	59.74	3.69
ADET	63.21	34.81	1.98
ABET	74.42	22.10	3.48
ADCT	1.15	84.34	14.51
ABCT	1.48	84.57	13.95

5. Respostas aclimatativas de plantas coocorrentes em formações vegetacionais de uma floresta tropical

Dhiego da Silva Oliveira¹; Priscila Fernanda Simioni²; Saulo Pireda²; Igor Araújo³; Gabriel Silva de Oliveira¹; Gabriel do Amaral Ferreira⁴; Maura Da Cunha¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy - Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

³ Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação - Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Nova Xavantina, Nova Xavantina, MT, Brasil.

⁴ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal/Universidade Estadual do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

5.1 Resumo

A restinga é um ecossistema da Mata Atlântica altamente instável e suscetível as mudanças climáticas futuras. Nesta região, a compreensão dos atributos funcionais das plantas de restinga ainda é escasso, podendo auxiliar no entendimento dos processos adaptativos. Neste estudo investigamos a aclimação funcional de características estruturais e fisiológicas para quatro espécies coocorrentes em formações vegetacionais de restinga da Mata Atlântica. Encontramos que, as espécies ajustam seus atributos funcionais foliares para sua coocorrência em diferentes formações de restinga, sendo que os atributos fisiológicos (e.g., taxa fotossintética líquida, condutância estomática e rendimento quântico máximo do fotossistema II (PSII)) se mostraram com maior plasticidade em todas as espécies e tiveram particular relevância para essa aclimação. Também, evidenciamos um agrupamento aclimatativo para as espécies *Schinus terebinthifolia* e *Pera glabrata*, visto que a maioria dos seus atributos não diferiram entre as formações vegetacionais, e estas investiram em uma combinação de ajustes foliares plásticos e integrados. Por outro lado, as espécies *Eugenia uniflora* e *Scutia arenicola* demonstraram ampla variação em seus atributos funcionais entre as formações de restinga, investindo mais em integração do que em plasticidade. Em geral, os resultados sugerem que a plasticidade e a integração fenotípica são processos que contribuem para a aclimação funcional das espécies em ambientes contrastantes e podem potencialmente auxiliar nas respostas às mudanças climáticas futuras.

Palavras-chave: Atributos funcionais; Plasticidade e integração fenotípica; Estabilidade funcional; Sensibilidade ambiental

5.2 Introdução

A Mata Atlântica é considerada um bioma de grande extensão e biodiversidade, apresentando uma área original de aproximadamente 1.315.460 km² (SOS Mata Atlântica, 2019-2020), que se estende do Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul (Murray-Smith et al., 2009). A Mata Atlântica é a segunda maior floresta tropical pluvial do mundo e representa um dos domínios biogeográficos mais significativos da América do Sul, abarcando aproximadamente 8% de toda a biodiversidade global (Magnago et al., 2015). Este bioma tem sido alvo de um contínuo processo de fragmentação e desmatamento, que se iniciou com as expedições portuguesas enviadas ao litoral brasileiro entre 1.500 e 1.530 (SOS Mata Atlântica, 2019-2020). Devido à sua alta biodiversidade, elevado grau de endemismo e altas taxas de desmatamento, a Mata Atlântica foi incluída como um dos 34 *hotspots* mundiais (Myers et al., 2000).

Esta constante fragmentação florestal leva as espécies a se tornarem mais vulneráveis às mudanças climáticas, estando sujeitas a processos de savanização e de perda de biodiversidade (Scarano & Ceotto, 2015; Urban, 2015). Segundo o relatório do Painel Intergovernamental de Mudança do Clima da ONU (IPCC), os últimos cinco anos são os mais quentes desde 1850, causado principalmente pelo aquecimento global. Esse aumento de temperatura em nosso planeta pode influenciar também o regime das chuvas, causando desde eventos de alagamentos até secas prolongadas (IPCC, 2021). Esse aumento irá afetar diretamente a disponibilidade hídrica nos ambientes, principalmente, ambientes que já sofrem escassez hídrica, por exemplo, as formações de restinga (Dai, 2013; Scarano & Ceotto, 2015). Essas formações apresentam filtros ambientais severos como: alta disponibilidade de radiação fotossinteticamente ativa (PAR) e salinidade, baixa disponibilidade hídrica e nutricional, solo arenoso com baixa retenção de água e intenso efeito antrópico (Assumpção & Nascimento, 2000; Melo Jr. & Boeger, 2018).

Segundo Assumpção & Nascimento (2000), as restingas do Complexo Lagunar de Grussaí e Iquipari (CLGI) diferem das demais restingas do estado do RJ pela ausência de dunas e extensa zona de praia, apresentando quatro formações vegetacionais: formação de mata de restinga que apresenta um ambiente sombreado, com plantas de maior porte e solo com maior quantidade de matéria orgânica; formação de *Clusia* com moitas adensadas, tendo a espécie *Clusia hilariana* na região central, gerando um sombreamento intermediário; formação praial com moitas tendo moitas menores apresentando alta disponibilidade de PAR e baixa disponibilidade de matéria orgânica; e a formação praial

graminóide que é formada por plantas rasteiras e herbáceas com alta disponibilidade de PAR, os efeitos do vento, maresia e salinidade tornam esta região altamente seletiva para espécies vegetais. Cada formação vegetacional apresenta variáveis microclimáticas e edáficas distintas. Algumas espécies possuem a capacidade de se aclimatar a essas variáveis ambientais e coexistir nestas formações (Araújo & Henriques, 1984; Assumpção & Nascimento, 2000).

Para se adaptarem aos filtros ambientais, as plantas realizam ajustes em seus atributos funcionais, principalmente os relacionados as folhas, por exemplo características estruturais e fisiológicas. A folha é um órgão altamente plástico (Sultan, 2000; Wright et al., 2004; Araújo et al., 2021; 2022). Com o objetivo de reduzir a perda de água por evapotranspiração, as plantas podem variar a densidade estomática, a espessura das cutículas e epidermes, diminuir a área foliar e o grau de abertura dos estômatos (Melo Jr. & Boeger, 2016). Para obter uma melhor eficiência fotossintética, as plantas podem variar a espessura do parênquima paliçádico e do lacunoso, e elevar os valores de assimilação de carbono (A) e de rendimento do PSII ($Y(II)$) (Pireda et al., 2019). Em busca de uma melhor eficiência no uso da água, as plantas podem aumentar o conteúdo de água na folha (LWMC) e de massa foliar por área (LMA), com a diminuição da taxa de transpiração (E) e da condutância estomática (g_s) (Zhou et al., 2013; Araújo et al., 2021).

Desse modo, a capacidade de aclimação das plantas em ajustar suas características estruturais e fisiológicas pode se dar através de mecanismos de plasticidade e integração fenotípica (Pireda et al., 2019; Borges et al., 2022). A plasticidade é a capacidade de o genótipo expressar distintos fenótipos frente as variáveis ambientais (Sultan, 2000; Valladares et al., 2007; Araújo et al., 2022). A integração fenotípica por sua vez, é compreendida como a rede de covariações funcionais entre os diferentes atributos funcionais das plantas (Pigliucci, 2003). Alguns estudos demonstraram uma relação positiva entre plasticidade e integração, assumindo a importância destes mecanismos na aclimação das espécies em ambientes contrastantes (Zimmermann et al., 2016; Pireda et al., 2019; Matesanz et al., 2021; Borges et al., 2022). Portanto, estudos envolvendo relações entre plasticidade e integração fenotípica servem de subsídios para a compreensão de processos adaptativos das plantas, visto que, podem servir como agentes preditores e mitigadores de mudanças climáticas. Neste estudo buscamos avaliar a aclimação funcional de características estruturais e fisiológicas foliares de quatro

espécies coocorrentes em formações vegetacionais de restinga (mata de restinga, formação de *Clusia* e formação praial com moitas) da Mata Atlântica. Nesse contexto, levantamos as seguintes questões:

1) *Quais foram os ajustes (i.e., estruturais e fisiológicos) que permitiram a coocorrência das espécies em formações de restinga?*

Esperamos encontrar na formação vegetacional com maior cobertura vegetal (mata de restinga) ajustes relacionados a eficiência fotossintética (maiores valores de g_s , A , $Y(II)$ e F_v/F_m , como também maiores espessuras de parênquima lacunoso). Nas formações de *Clusia* e praial com moitas, onde não há cobertura vegetal, espera-se encontrar ajustes para um maior armazenamento e menor perda de água (maior densidade e estômatos menores, maior conteúdo de água na folha e menores valores de condutância e transpiração) (Arruda et al., 2009; Campbell et al., 2018; Pireda et al., 2019; Borges et al., 2022).

2) *As estratégias aclimatativas desenvolvidas pelas espécies, em respostas as heterogeneidades ambientais das formações de restinga são espécie-específicas ou existe um padrão de resposta convergente?*

Espera-se encontrar respostas específicas em cada formação vegetacional para as espécies estudadas, visto que, cada formação apresenta características microclimáticas e edáficas distintas, gerando ajustes estruturais e fisiológicos foliares (Rabelo et al., 2013; Melo Jr. & Boeger, 2016; Melo Júnior et al., 2019; Pireda et al., 2019; 2020).

3) *O processo de aclimação das espécies é mediado por ajustes plásticos e/ou integrados?*

Acredita-se que a aclimação das espécies se dá através de processos de plasticidade e integração, onde estes atuam juntos e se correlacionam positivamente no ambiente de restinga (Zimmermann et al., 2016; Pireda et al., 2019; Matesanz et al., 2021; Borges et al., 2022).

5.3 Materiais e Métodos

5.3.1 Área de Estudo

As áreas de estudo se compreendem em uma formação de restinga localizada na RPPN da Fazenda Caruara, pertencente ao Complexo Lagunar de Grussaí/Iquipari (CLGI), São João da Barra – RJ (21° 72 65 4`S e 41° 03 64 5`W). O clima da região é do tipo Aw, com sazonalidade climática marcante com períodos chuvosos durante o verão (outubro a abril) e secos durante o inverno (maio a setembro) conforme a classificação de Koppen (Koppen, 1948). A pluviosidade média anual é de 1.000 mm e temperatura média anual variando de 19 a 25°C (Assumpção & Nascimento, 2000).

A RPPN Fazenda Caruara apresenta quatro formações vegetacionais de restinga. Realizamos o estudo em três formações vegetacionais, que incluem: mata de restinga, formação de *Clusia* e formação praial com moitas (Assumpção & Nascimento 2000). A mata de restinga é uma formação com cobertura arbórea de 45 a 60%, e consiste em uma copa superior de 2 a 15 m de altura, as moitas se adensam e formam uma floresta contínua, ocorrendo a presença de serrapilheira, e está localizada a 980 m da linha do mar (Cabral et al., 2018). Nas medições microclimáticas observamos baixa disponibilidade de PAR, quando comparado às outras formações. Porém, esta formação apresentou valores elevados para temperatura e déficit de pressão de vapor (VPD) (Tabela 1). O solo apresenta pH baixo (5,7) e altos níveis de Mg, C, matéria orgânica, N, condutividade elétrica e umidade (Tabela 1).

A formação de *Clusia* apresenta uma copa superior de 1 a 3 m de altura, e está localizada a 580 m da linha do mar. A espécie *C. hilariana* enriquece o solo com suas folhas e possibilita outras espécies colonizarem ao seu redor (Villela et al., 2020). Nas medições microclimáticas observamos níveis elevados de PAR, com a temperatura e o VPD próximos dos valores encontrados para mata de restinga (Tabela 1). O solo apresentou altos níveis de Zn, Mn, Na, C, matéria orgânica, condutividade elétrica e umidade (Tabela 1).

A formação praial com moitas apresenta uma copa de no máximo 1 m de altura. Ocorre a nucleação, onde cactáceas e bromeliáceas auxiliam no aparecimento de outras espécies vegetais, e está localizada a 250 m da linha do mar (Assumpção & Nascimento, 2000). Quanto ao microclima, é a formação com os maiores valores de PAR e menores valores de temperatura e VPD (Tabela 1). O solo desta formação apresenta um pH mais neutro (6,8), com baixa concentração de Mg, Na, C, matéria orgânica, Zn, Mn, N, condutividade elétrica e umidade quando comparada às outras formações vegetacionais (Tabela 1).

5.3.2 Seleção das Espécies e Coleta de Dados

Para entender a variação dos atributos funcionais foliares, selecionamos quatro espécies (*Eugenia uniflora* L. - Myrtaceae; *Schinus terebinthifolia* Raddi - Anacardiaceae; *Pera glabrata* (Schott) Baill. - Peraceae; *Scutia arenicola* (Casar.) Reissek - Rhamnaceae) dominantes e coocorrentes nas três formações vegetacionais estudadas (Assumpção & Nascimento, 2000). Para determinação das características estruturais e fisiológicas, selecionamos aleatoriamente 25 folhas para cada espécie (cinco folhas por indivíduo) em cada formação vegetacional, seguindo o protocolo de padronização foliar: 1) totalmente expandidas, 2) a pleno sol e 3) livres de danos causados por patógenos e/ou herbívoros entre julho e setembro de 2019. Todos os atributos avaliados estão apresentados na tabela S1.

5.3.3 Medições de Parâmetros Microclimáticos

A PAR, a temperatura e umidade relativa do ar foram mensuradas com apoio de um radiômetro LI-250 e um termo-higroanemômetro (AKSO – AK832). As medições foram conduzidas em quatro pontos diferentes ao redor de cada indivíduo em cada formação vegetacional a uma distância média de 3 m de uma extremidade à outra. Todas as plantas foram avaliadas individualmente (n=60) em horários pré-definidos ao longo do dia (12:00 às 14:00h). A cada mês, começamos as medições em uma extremidade diferente, em um mês na formação praias com moitas e no mês seguinte na região de mata de restinga, para que as análises não fossem tendenciadas e pudessem ser as mais homogêneas possíveis, tentando retratar o microclima das formações vegetacionais.

Posteriormente, foi calculado o déficit de pressão de vapor (VPD) a partir da fórmula: $VPD = es/ea$, onde es: pressão de vapor saturado do ar e ea: pressão de vapor do ar.

$$es: 0,61137 * EXP ((17,502 * Temperatura) / (Temperatura + 240,97))$$

$$ea: 1 - (Umidade / 100)$$

5.3.4 Análise Físico-química do Solo

Com auxílio de um trado holandês, foram coletadas amostras de solo ao redor de todas as espécies nas três formações vegetacionais. Em seguida, as amostras foram homogeneizadas gerando um total de cinco amostras com peso aproximado de 500 g de

solo para cada formação. Posteriormente, as amostras foram analisadas na Fundação Norte Fluminense de Desenvolvimento Regional (Fundenor) seguindo a metodologia Embrapa (2000). Para mais detalhes das variáveis microclimáticas e edáficas consulte a Tabela 1.

Tabela 1: Características microclimáticas e edáficas de três formações vegetacionais de restinga da Mata Atlântica. As letras diferentes denotam diferenças significativas (Tukey $P < 0.05$). PAR – Radiação fotossinteticamente ativa, Déficit de pressão de vapor - VPD, Fósforo – P, Potássio – K, Cálcio – Ca, Magnésio – Mg, Alumínio – Al, Prótons e alumínio – H+Al, Sódio – Na, Carbono – C, Matéria orgânica – OM, Capacidade de troca catiônica – CTC, Saturação de bases – BS, Índice de saturação de bases – V, Índice de saturação de sódio – SINa, Ferro – Fe, Cobre – Cu, Zinco – Zn, Manganês – Mn, Boro – B, Saturação de SO₄ - S-SO₄, Nitrogênio – N.

		Microclimatic and Edaphic Characteristics		
		Forest	<i>Clusia</i>	Shrub
Microclimatic	PAR ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	442.5 \pm 44.7 c	1234.2 \pm 80.9 b	1594.0 \pm 35.7 a
	Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	30.3 \pm 0.4 a	30.1 \pm 0.3 a	28.8 \pm 0.2 b
	Air Humidity (%)	56.3 \pm 1.2 a	56.2 \pm 1.1 a	59.9 \pm 1.3 a
	VPD (KPa)	1.9 \pm 0.04 a	1.9 \pm 0.03 a	1.6 \pm 0.04 b
Edaphic	pH Water	5.7 \pm 0.4 bc	6.2 \pm 0.2 ac	6.8 \pm 0.2 a
	P (mg/dm^3)	10.0 \pm 0.5 a	5.0 \pm 0.2 a	10.0 \pm 0.5 a
	K (mmol/dm^3)	1.0 \pm 0.1 a	0.8 \pm 0.1 a	0.4 \pm 0.1 a
	Ca (mmol/dm^3)	17.2 \pm 0.9 a	17.2 \pm 0.7 a	9.9 \pm 0.3 a
	Mg (mmol/dm^3)	4.7 \pm 0.1 a	6.5 \pm 0.3 a	1.4 \pm 0.1 b
	Al (mmol/dm^3)	0.8 \pm 0.2 a	0.4 \pm 0.1 a	0.4 \pm 0.1 a
	H+Al (mmol/dm^3)	17.1 \pm 1.3 a	10.8 \pm 0.5 a	6.3 \pm 0.6 a
	Na (mmol/dm^3)	0.90 \pm 0.02 ab	1.13 \pm 0.06 a	0.40 \pm 0.01 b
	C (g/dm^3)	10.87 \pm 0.51 a	8.03 \pm 0.25 a	2.20 \pm 0.20 b
	OM (g/dm^3)	18.7 \pm 0.9 a	13.8 \pm 0.4 a	3.8 \pm 0.3 b
	CTC (mmol/dm^3)	40.9 \pm 1.7 a	36.4 \pm 0.9 a	18.4 \pm 0.8 b
	BS (mmol/dm^3)	23.8 \pm 1.1 a	25.6 \pm 1.1 a	12.1 \pm 0.3 a
	V (%)	59 \pm 2.4 a	70 \pm 1.7 a	68 \pm 2.2 a
	SINa (%)	2.0 \pm 0.1 a	3.0 \pm 0.2 a	2.0 \pm 0.1 a
	Fe (mg/dm^3)	36.2 \pm 1.6 a	64.2 \pm 2.9 a	75.1 \pm 5.2 a
	Cu (mg/dm^3)	0.51 \pm 0.02 a	0.33 \pm 0.02 a	0.39 \pm 0.01 a
	Zn (mg/dm^3)	0.59 \pm 0.02 ab	0.82 \pm 0.02 a	0.29 \pm 0.01 b
	Mn (mg/dm^3)	17.64 \pm 0.72 bc	31.61 \pm 0.47 a	13.99 \pm 0.36 c
	B (mg/dm^3)	0.23 \pm 0.01 a	0.24 \pm 0.02 a	0.20 \pm 0.01 a
	S-SO ₄ (mg/dm^3)	10.3 \pm 0.5 a	10.7 \pm 0.4 a	6.0 \pm 0.1 a
N (%)	0.42 \pm 0.01 a	0.34 \pm 0.01 ab	0.18 \pm 0.02 b	
Electric Conductivity (dS/m)	0.310 \pm 0.007 a	0.241 \pm 0.009 a	0.155 \pm 0.007 b	
Soil Relative Humidity (%)	1.01 \pm 0.04 a	0.77 \pm 0.02 a	0.26 \pm 0.02 b	

5.3.5 Medidas de Atributos Estruturais

Para as análises dos atributos alométricos foliares foram selecionadas 25 folhas por espécie em cada formação vegetacional. A área foliar (cm²) foi calculada a partir de imagens escaneadas e mensuradas pelo software Image J, conforme a metodologia de Rasband (1997–2008) e Perez-Harguindeguy et al. (2013). A partir das mesmas folhas foram retirados discos de 0,4 cm de diâmetro do terço médio, que foram submetidos a hidratação por 24 h para a determinação da massa saturada em balança digital (Shimadzu modelo AY220, Japan). Posteriormente, os discos foram secos em estufa a 60 °C por 72 h para obtenção da massa seca. O conteúdo de água na folha (LWMC) foi obtido através da seguinte equação: $LWMC = M_{saturada} - M_{seca}/\text{área do disco}$. A massa foliar específica (LMA) foi calculada através da seguinte equação: $LMA = \text{Massa seca}/\text{área do disco}$ (Kluge & Ting, 1978).

Para determinar a espessura dos tecidos foliares (lâmina foliar, parênquima paliçádico e lacunoso, epidermes e cutículas), foram examinadas 25 folhas por espécie em cada formação. Para isso, cortes transversais à mão livre do terço mediano da folha foram obtidos com auxílio de uma lâmina de barbear. Os cortes foram analisados no microscópio óptico (Axioplan, ZEISS, Alemanha) acoplado a câmera (Moticam Pro 282B, Hong Kong), para obtenção de cinco imagens por campo. As imagens obtidas foram analisadas e processadas através do software Image Pro-Plus, seguindo a metodologia proposta por Rasband (1997–2008) e Perez-Harguindeguy et al. (2013).

Para a determinação da densidade de estômatos e da área estomática foram selecionadas 25 folhas por espécie, sendo analisadas cinco folhas por indivíduo. A dissociação das epidermes seguiu o método de Franklin (1945), colocando as amostras em solução de ácido acético e peróxido de hidrogênio (1:1), e posteriormente, observamos em microscópio (Axioplan, ZEISS, Alemanha).

5.3.6 Preparo de Amostras para Micromorfologia

Foram coletados fragmentos do terço médio de três folhas por espécie em cada formação vegetacional. Primeiramente, o material foi fixado em solução de 2,5 % de glutaraldeído, 4 % de formaldeído e 0,05M a pH 7,2 de tampão cacodilato de sódio (Karnovsky, 1965 modificado por Da Cunha *et al.*, 2000). Posteriormente, as amostras foram pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% e tampão cacodilato de sódio 0,05 M durante duas horas, no escuro. Em seguida, as amostras foram desidratadas em série cetônica, submetidas à secagem em ponto-crítico de CO₂ (CPD 030, Baltec), aderidas em stubs

com fita adesiva de carbono e cobertas com camada de 20 nm de ouro (SCD 050, Baltec, Suíça). As imagens foram obtidas no microscópio eletrônico de varredura (EVO 40, ZEISS, Alemanha) com tensão de 15 KV.

5.3.7 Fluorescência da Clorofila *a*

As análises de fluorescência da clorofila *a* foram realizadas com o objetivo de avaliar o desempenho fotoquímico do fotossistema II (PSII). Para isso foram analisadas 25 folhas por espécie em cada formação vegetacional. Inicialmente as folhas foram adaptadas ao escuro por 30 minutos com auxílio de pinças. Em seguida, as folhas foram expostas a luz vermelha modulada de baixa intensidade ($6 \mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ a 660 nm), seguida pela exposição à luz branca actínica de alta intensidade ($10.000 \mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), aplicada por 0,8 segundos (Genty et al., 1989; Van Kooten & Snel, 1990). As análises foram realizadas entre 12 h e 14 h utilizando o fluorímetro modulado portátil (OS5p Opti-Sciences, UK). As seguintes variáveis da cinética de emissão de fluorescência da clorofila *a* foram utilizadas: eficiência quântica do PSII (Y_{II}) e eficiência quântica máxima do PSII (F_v/F_m).

5.3.8 Trocas Gasosas

Para as análises de trocas gasosas foram selecionadas as mesmas folhas utilizadas nas análises de emissão de fluorescência da clorofila *a*. Para isso foi utilizado um analisador de dióxido de carbono infravermelho portátil (LCpro-SD, ADC BioScientific Ltd., Reino Unido), onde medimos a taxa fotossintética líquida (A), taxa de transpiração (E) e condutância estomática (g_s) entre 12h e 14h. Foi utilizada uma câmara em condições controladas de PAR a $2000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. A temperatura e umidade não foram parâmetros controlados, posto que foi feito o uso das condições ambientais. O CO_2 foi capturado do ambiente a aproximadamente 2 m de altura acima da superfície foliar, com auxílio de uma sonda coletora de ar.

5.3.9 Índice de Plasticidade de Distância Relativa (RDPI) e Integração Fenotípica (PI)

O índice de plasticidade de distância relativa (RDPI) foi calculado a nível de atributos individualizados ($\text{RDPI}_{\text{traits}}$), e separadamente a nível de espécies ($\text{RDPI}_{\text{total}}$), de acordo com Valladares et al. (2006). Esses valores variam de 0 a 1 e permitem que sejam

feitas comparações entre os atributos com unidades diferentes (Valladares *et al.*, 2000). O RDPI é obtido a partir da equação:

$$\text{RDPI} = \sum (d_{ij} \rightarrow i'j' / (xi'j' + x_{ij})) / n$$

Onde:

i: áreas de estudo (mata de restinga, formação de *Clusia* e formação praial com moitas), (i = 1, 2 e 3);

j - corresponde às repetições, (j = 5 indivíduos);

n - corresponde ao tamanho da amostra (n = 25 indivíduos);

x_{ij} - valor do atributo de um determinado indivíduo, submetido às três áreas de estudo (mata de restinga, formação de *Clusia* e formação praial com moitas). Para um único atributo, consideramos um retângulo matriz x_{ij} onde i (linhas) representam as áreas de estudo e j (coluna) representa das repetições.

d_{ij} → i'j' - corresponde à distância relativa entre os atributos, onde os valores das repetições estão subtraindo aos pares.

xi'j'+ x_{ij} - corresponde à soma das repetições aos pares.

A integração fenotípica (% PI) foi calculada a partir da quantidade de correlações funcionais entre os atributos funcionais foliares a nível de espécie (%PI_{total}) e por grupos de atributos funcionais (PI_{estrutural} e PI_{fisiológico}). Para tanto, uma matriz de correlação de Pearson foi construída para avaliar a relação entre as características funcionais da folha para cada espécie, respectivamente. Em seguida, foram produzidos modelos lineares para avaliar a relação entre a plasticidade de distância relativa (RDPI) e a integração fenotípica (PI) separadamente para cada espécie. Posteriormente, comparamos a variação de RDPI e PI entre grupos de características (isto é, estrutural e fisiológico) usando o teste t de permutação com o pacote “*RVAideMemoire*” (Hervé, 2021) para cada espécie respectivamente. A porcentagem de integração fenotípica (% PI) foi obtida pela razão entre o número total de correlações entre as características (Nº Correlações Total) e o número de correlações significativas (Nº Correlações Significativas) (Schlichting, 1986; Schlichting & Pigliucci, 1998).

$$(\% \text{ PI} = [(\text{N}^\circ \text{ Correlações Significativas} * 100) / \text{N}^\circ \text{ Correlações Total}])$$

O % PI varia de 0 a 100% (ou forma 0 a 1), onde 0 representa sem integração e 100% (ou 1) representa integração máxima (Godoy *et al.*, 2012).

5.3.10 Análises Estatísticas

Todas as características funcionais foliares foram comparadas entre os tipos de vegetação de restinga (Forest, *Clusia* e Shrub) individualmente para cada espécie. Primeiro ajustou-se um modelo nulo e um modelo alternativo para cada uma das características, representando assim a hipótese nula (ou seja, a variância da característica é independente do fator vegetação) e as hipóteses alternativas (ou seja, a variância da característica é explicada pelo fator vegetação), respectivamente. A similaridade estatística entre o modelo nulo e o modelo alternativo foi testada por meio de uma *one-way* ANOVA e, quando encontradas diferenças estatisticamente significativas ($P < 0.05$), testou-se ainda a similaridade estatística de cada característica entre os tipos vegetacionais (ou seja, “Forest, *Clusia* e Shrub”) por meio de um teste de Tukey projetado especificamente para a análise post-hoc dos modelos. Os modelos lineares de efeitos mistos (LMM) foram ajustados, nos quais os tipos vegetacionais foram considerados como um efeito aleatório. O melhor modelo foi escolhido com base nos critérios de informação de Akaike, quando eles eram estatisticamente significativamente distintos. Foram utilizados o pacote “*lme4*”, função “*lmer*”, para ajustar os LMMs (Bates et al., 2015), e o pacote “*multcomp*”, função “*glht*”, para realizar o teste post-hoc de Tukey nos LMMs (Hothorn et al., 2008).

Também, testamos se as características edáficas e microclimáticas eram diferentes entre os tipos de vegetação, por meio de análise de variância univariada (ANOVA) individualmente para cada variável. Posteriormente, foram aplicados testes post-hoc de Tukey para identificar diferenças significativas entre tipos específicos de vegetação. Antes das análises, foram testadas a normalidade e homocedasticidade dos dados usando os testes Shapiro-Wilk e Levene (Levene, 1961; Shapiro-Wilk, 1965). Todas as análises foram realizadas no software R versão 4.2.1 (R Core Team 2022).

5.4 Resultados

5.4.1 Variação Intraespecífica dos Atributos Estruturais e Fisiológicos Foliares

As espécies apresentaram variação intraespecífica nos atributos estruturais e fisiológicos entre as formações vegetacionais de restinga (Tabela 2; 3; Figura 1; 2). As espécies *E. uniflora* e *S. terebinthifolia* apresentaram redução da área foliar (LEA/cm²) na formação de *Clusia* e praias com moitas. Consequentemente, houve um aumento na mata de restinga. Por outro lado, *P. glabrata* e *S. arenicola* não necessitaram ajustar a

LEA para se aclimatarem nas três áreas estudadas (Tabela 2; Tabela 3). Quanto ao conteúdo de água na folha (LWMC/mg g⁻¹), *E. uniflora* apresentou maiores valores na mata de restinga, enquanto *P. glabrata* e *S. terebinthifolia* tiveram valores mais elevados na formação praial com moitas. A espécie *S. arenicola* diferiu das demais, demonstrando maiores valores de LWMC na formação de *Clusia* (Tabela 2; Tabela 3).

Com relação a massa foliar por área (LMA/g.m⁻²) e aos atributos anatômicos foliares foi possível observar, que as espécies apresentaram estratégias fenotípicas divergentes. As espécies *E. uniflora* e *S. arenicola* apresentaram maiores valores de LMA nas formações de *Clusia* e praial com moitas, refletindo diretamente no maior espessamento dos atributos anatômicos foliares, tais como: lâmina foliar, parênquima paliçádico e lacunoso, epiderme adaxial, e cutículas adaxial e abaxial (Tabela 2; Tabela 3; Figura 1B, C, K, L; Figura 2B, C, K, L). No caso da espécie *P. glabrata*, menores valores de LMA foram observados na formação de *Clusia*. No entanto, tal diferença não foi suficiente para induzir alterações significativas nos atributos anatômicos foliares (Tabela 3; Figura 1H; Figura 2H). Por fim, *S. terebinthifolia* não apresentou diferenças significativas para LMA e nem para os atributos anatômicos foliares (Tabela 2; Figura 1D, E, F; Figura 2D, E, F). Vale ressaltar que a epiderme abaxial foi o único atributo anatômico que não apresentou diferenças significativas entre as formações para nenhuma das espécies estudadas (Tabela 2; Tabela 3).

Os aspectos estomáticos foram os que mais apresentaram divergências fenotípicas entre as espécies e formações. A espécie *E. uniflora* apresentou maior densidade estomática (STD/mm²) e área estomática (STA/μm) nas formações de *Clusia* e praial com moitas (Tabela 2; Figura 1B, C). A STD também aumentou em *S. terebinthifolia* na formação praial com moitas, porém, não apresentou diferenças na STA (Tabela 2; Figura 1D, E, F). Contrariamente, *S. arenicola* investiu em maiores STA na formação praial com moitas e não diferiu quanto a STD (Tabela 3; Figura 1J, K, L). Por fim, *P. glabrata* apresentou menor STA e STD na formação praial com moitas e maiores na formação de *Clusia* (Tabela 3; Figura 2G, H, I).

Os atributos fisiológicos de trocas gasosas apresentaram padrões fenotípicos mais convergentes. As quatro espécies estudadas apresentaram maiores valores para taxas fotossintéticas líquidas ($A/\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), condutância estomática ($g/\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$), e taxas de transpiração ($E/\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$) na formação praial com moitas, e menores na mata de restinga (Tabela 2; Tabela 3). Já os atributos fisiológicos relacionados à performance

fotossintética dos fotossistemas II (PSII) demonstraram um padrão fenotípico heterogêneo. As espécies *S. terebinthifolia* e *S. arenicola* não demonstraram diferenças no rendimento quântico efetivo do PSII ($Y(II)$) entre as formações vegetacionais (Tabela 2; Tabela 3), ao passo que *E. uniflora* e *P. glabrata* apresentaram maiores valores de $Y(II)$ apenas na formação de *Clusia* (Tabela 2; Tabela 3). Com relação ao rendimento quântico máximo do PSII (Fv/Fm), as espécies *E. uniflora*, *P. glabrata* e *S. arenicola* apresentaram maiores valores na formação de *Clusia* e praia com moitas, enquanto *S. terebinthifolia* apresentou maiores valores somente na formação de *Clusia* (Tabela 2).

Tabela 2: Valores médios (min – máx) dos atributos foliares estruturais e fisiológicos das espécies *E. uniflora* e *S. terebinthifolia* coocorrentes nas três formações de restinga da Mata Atlântica. As letras diferentes denotam as diferenças significativas entre as formações vegetacionais para cada espécie, respectivamente (Tukey $P < 0.05$). (*A*) Taxa fotossintética líquida; (*gs*) Condutância estomática; (*E*) Taxa de transpiração; (*Y(II)*) Rendimento quântico efetivo do PSII; (*Fv/Fm*) Rendimento quântico máximo do PSII.

Traits / Species	<i>E. uniflora</i>			<i>S. terebinthifolia</i>		
	Sandbank Forest	<i>Clusia</i> Formation	Beach Grass and Shrub	Sandbank Forest	<i>Clusia</i> Formation	Beach Grass and Shrub
Leaf area (LEA/cm ²)	8.71 (3.91 - 14.08) a	6.17 (3.91 - 8.00) b	4.10 (2.78 - 6.71) c	3.99 (2.31 - 8.45) a	3.99 (2.31 - 8.45) a	2.45(1.10 - 4.16) b
Leaf water content (LWMC/mg g ⁻¹)	123.89 (15.92 - 214.97) a	84.40 (31.85 - 159.24) b	68.47 (15.92 - 183.12) b	64.01 (7.96 - 127.39) b	77.07 (15.92 - 135.35) ab	98.09 (15.92 - 167.20) a
Leaf mass area (LMA/g m ⁻²)	74.52 (39.81 - 119.43) b	71.02 (31.85 - 111.46) b	87.90 (55.73 - 119.43) a	97.13 (39.81 - 159.24) a	96.50 (55.73 - 135.35) a	105.41 (55.73 - 183.12) a
Leaf blade (LEB/μm)	251.87 (210.53 - 277.01) b	317.24 (252.08 - 376.74) a	335.85 (277.01 - 368.42) a	346.94 (296.41 - 421.05) a	334.30 (277.02 - 421.06) a	342.97 (268.71 - 424.40) a
Palisade (PPT/μm)	71.37 (53.61 - 111.35) b	86.71 (72.85 - 115.46) b	107.71 (67.35 - 136.09) a	135.43 (105.84 - 167.72) a	125.42 (75.60 - 171.82) a	118.38 (85.23 - 170.45) a
Spongy (SPT/μm)	132.58 (105.85 - 154.01) b	174.79 (122.34 - 202.06) a	175.16 (151.20 - 213.06) a	133.40 (103.18 - 167.70) a	130.42 (79.74 - 192.44) a	125.86 (89.39 - 169.07) a
Adaxial ep. (EDA/μm)	11.25 (7.63 - 14.20) b	14.76 (10.40 - 16.98) a	14.28 (10.39 - 18.01) a	11.26 (5.89 - 15.93) a	11.21 (6.94 - 16.31) a	11.68 (9.00 - 16.46) a
Adaxial cut. (CDA/μm)	4.13 (3.12 - 5.21) b	5.53 (3.46 - 6.94) a	5.84 (4.16 - 8.31) a	5.15 (3.81 - 7.67) a	5.62 (4.50 - 7.27) a	5.67 (4.16 - 7.97) a
Abaxial ep. (EBA/μm)	9.45 (6.58 - 12.47) a	10.46 (6.93 - 13.52) a	10.70 (7.63 - 13.16) a	9.57 (7.27 - 12.94) a	9.64 (7.27 - 12.47) a	10.57 (7.97 - 16.97) a
Abaxial cut. (CBA/μm)	3.29 (2.08 - 4.50) c	3.98 (3.12 - 5.21) b	4.67 (3.12 - 6.58) a	4.62 (3.12 - 5.93) b	5.13 (4.16 - 6.24) ab	5.80 (3.81 - 8.32) a
Stomatal density (STD/mm ²)	46.02 (30.00 - 66.00) b	91.63 (62.00 - 124.00) a	80.41 (54.00 - 118.00) a	37.40 (26.00 - 44.00) b	39.82 (30.00 - 54.00) b	54.22 (42.00 - 76.00) a
Stomatal area (STA/μm)	200.59 (128.47 - 294.90) b	223.45 (153.76 - 281.44) b	288.17 (136.20 - 544.80) a	246.09 (136.20 - 359.65) a	206.35 (104.28 - 306.45) a	255.01 (119.71 - 511.28) a
<i>A</i> (μmol m ⁻² s ⁻¹)	1.18 (0.37 - 2.85) b	1.77 (1.06 - 2.82) b	5.03 (3.89 - 6.46) a	1.23 (0.61 - 1.99) c	2.92 (1.50 - 4.10) b	4.63 (3.16 - 6.22) a
<i>gs</i> (μmol m ⁻² s ⁻¹)	20 (10 - 150) b	20 (20 - 30) b	110 (80 - 150) a	10 (10 - 20) b	30 (20 - 50) b	60 (40 - 90) a
<i>E</i> (mol m ⁻² s ⁻¹)	0.55 (0.14 - 0.99) b	0.77 (0.53 - 0.97) b	2.58 (2.13 - 3.24) a	0.54 (0.32 - 0.65) b	0.71 (0.45 - 0.96) b	1.70 (1.12 - 2.13) a
<i>Y(II)</i>	0.17 (0.02 - 0.38) b	0.32 (0.14 - 0.57) a	0.24 (0.02 - 0.51) ab	0.42 (0.14 - 0.66) a	0.42 (0.11 - 0.58) a	0.30 (0.07 - 0.53) a
<i>Fv/Fm</i>	0.59 (0.42 - 0.69) b	0.72 (0.64 - 0.79) a	0.67 (0.60 - 0.72) a	0.73 (0.63 - 0.79) b	0.81 (0.76 - 0.86) a	0.72 (0.54 - 0.79) b

Continua...

Tabela 3: Valores médios (min – máx) dos atributos foliares estruturais e fisiológicos das espécies *P. glabrata* e *S. arenicola* coocorrentes nas três formações de restinga da Mata Atlântica. As letras diferentes denotam as diferenças significativas entre as formações vegetacionais para cada espécie, respectivamente (Tukey $P < 0.05$). (*A*) Taxa fotossintética líquida; (*gs*) Condutância estomática; (*E*) Taxa de transpiração; (*Y(II)*) Rendimento quântico efetivo do PSII; (*Fv/Fm*) Rendimento quântico máximo do PSII.

Traits / Species	<i>P. glabrata</i>			<i>S. arenicola</i>		
	Sandbank Forest	<i>Clusia</i> Formation	Beach Grass and Shrub	Sandbank Forest	<i>Clusia</i> Formation	Beach Grass and Shrub
Leaf area (LEA/cm ²)	10.87 (5.15 - 21.43) a	9.06 (5.78 - 15.18) a	8.79 (4.18 - 15.18) a	7.10 (4.21 - 11.28) a	7.10 (4.55 - 11.98) a	6.80 (3.16 - 9.12) a
Leaf water content (LWMC/mg g ⁻¹)	109.87 (47.77 - 151.27) b	93.95 (15.92 - 159.24) b	197.77 (127.39 - 278.66) a	96.82 (15.92 - 230.89) c	197.77 (95.54 - 262.74) a	157.64 (71.66 - 230.89) b
Leaf mass area (LMA/g m ⁻²)	111.79 (79.62 - 159.24) a	82.48 (23.89 - 127.39) b	105.42 (79.62 - 159.24) a	131.53 (87.58 - 191.08) b	163.06 (135.35 - 199.04) a	176.75 (127.39 - 230.89) a
Leaf blade (LEB/μm)	275.46 (245.16 - 310.25) a	292.08 (265.94 - 335.18) a	304.72 (249.37 - 343.49) a	372.97 (293.63 - 451.52) b	418.32 (362.89 - 484.77) b	529.75 (443.21 - 601.11) a
Palisade (PPT/μm)	86.44 (74.23 - 108.63) a	100.08 (74.23 - 129.22) a	109.03 (78.36 - 137.46) a	85.26 (52.24 - 126.49) b	104.58 (85.34 - 120.96) ab	121.93 (93.47 - 156.70) a
Spongy (SPT/μm)	113.17 (100.34 - 129.22) a	109.70 (94.86 - 126.47) a	103.76 (85.23 - 125.09) a	191.27 (134.71 - 248.80) b	214.28 (167.70 - 262.58) b	297.19 (224.07 - 387.64) a
Adaxial ep. (EDA/μm)	33.78 (25.97 - 45.02) a	38.06 (29.09 - 46.56) a	37.18 (23.55 - 53.33) a	11.24 (8.14 - 14.55) a	9.99 (7.45 - 11.95) a	10.09 (7.10 - 12.82) a
Adaxial cut. (CDA/μm)	6.42 (4.85 - 9.18) a	7.17 (5.19 - 12.81) a	6.06 (4.16 - 8.66) a	8.90 (6.41 - 11.61) b	10.99 (7.97 - 13.68) a	11.96 (8.83 - 15.24) a
Abaxial ep. (EBA/μm)	21.95 (16.45 - 27.91) a	20.91 (13.94 - 29.10) a	20.46 (13.85 - 25.63) a	7.97 (5.19 - 13.61) a	7.73 (5.54 - 10.73) a	7.80 (5.27 - 10.56) a
Abaxial cut. (CBA/μm)	5.59 (4.16 - 8.48) a	6.53 (4.85 - 9.00) a	6.10 (4.50 - 7.97) a	7.25 (4.33 - 10.05) b	10.01 (5.72 - 12.30) a	11.19 (8.16 - 14.60) a
Stomatal density (STD/mm ²)	21.21 (16.00 - 32.00) ab	21.80 (16.00 - 30.00) a	17.42 (12.00 - 24.00) b	63.61 (44.00 - 74.00) a	65.05 (48.00 - 86.00) a	64.82 (28.00 - 90.00) a
Stomatal area (STA/μm)	172.48 (119.71 - 234.63) ab	195.77 (136.20 - 332.52) a	167.98 (115.19 - 225.78) b	146.07 (104.28 - 257.50) b	103.44 (64.38 - 136.20) c	282.51 (172.38 - 579.38) a
<i>A</i> (μmol m ⁻² s ⁻¹)	0.96 (0.56 - 1.85) c	3.25 (2.20 - 3.71) a	2.08 (1.34 - 2.75) b	1.41 (0.69 - 1.88) b	1.39 (0.48 - 2.58) b	2.50 (1.11 - 4.43) a
<i>gs</i> (μmol m ⁻² s ⁻¹)	20 (10 - 30) b	50 (30 - 50) a	40 (30 - 60) a	20 (10 - 20) b	20 (10 - 40) b	40 (30 - 50) a
<i>E</i> (mol m ⁻² s ⁻¹)	0.52 (0.28 - 0.78) b	1.53 (1.12 - 1.75) a	1.30 (0.88 - 1.76) a	0.58 (0.35 - 0.85) b	0.44 (0.35 - 0.62) b	1.15 (0.75 - 1.86) a
<i>Y(II)</i>	0.38 (0.05 - 0.52) a	0.36 (0.15 - 0.52) a	0.18 (0.04 - 0.38) b	0.29 (0.04 - 0.52) a	0.36 (0.05 - 0.62) a	0.22 (0.03 - 0.44) a
<i>Fv/Fm</i>	0.61 (0.41 - 0.79) b	0.68 (0.47 - 0.76) ab	0.71 (0.62 - 0.78) a	0.73 (0.67 - 0.81) b	0.79 (0.74 - 0.82) a	0.77 (0.71 - 0.81) a

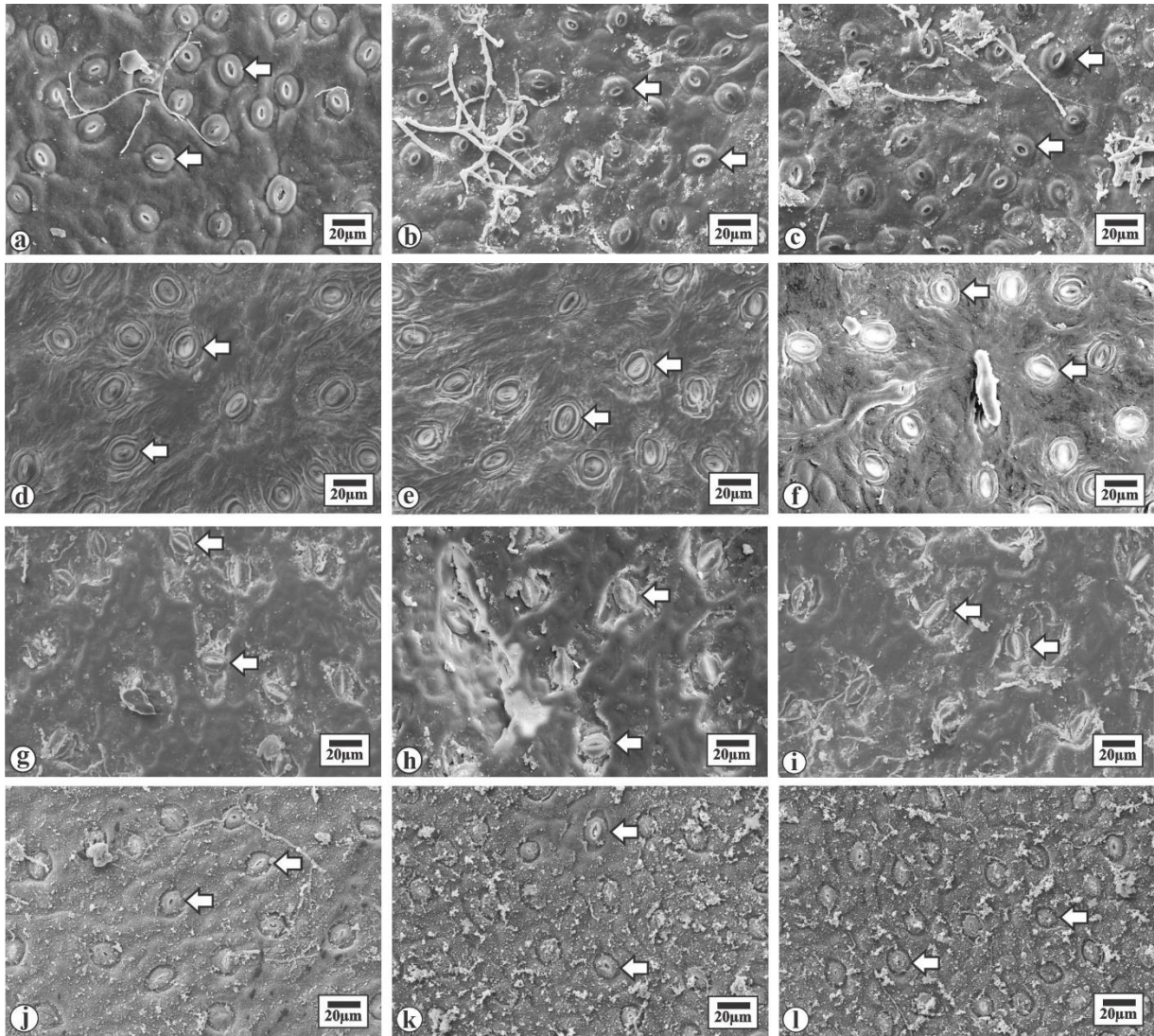


Figura 1: Micromorfologia das espécies *E. uniflora*, *S. terebinthifolia*, *P. glabrata* e *S. arenicola* nas formações de mata de restinga, *Clusia* e praial com moitas. **(a)** Epiderme abaxial de *E. uniflora* na formação de mata; **(b)** Epiderme abaxial de *E. uniflora* na formação de *Clusia*; **(c)** Epiderme abaxial de *E. uniflora* na formação praial com moitas; **(d)** Epiderme abaxial de *S. terebinthifolia* na formação de mata; **(e)** Epiderme abaxial de *E. uniflora* na formação de *Clusia*; **(f)** Epiderme abaxial de *S. terebinthifolia* na formação praial com moitas; **(g)** Epiderme abaxial de *P. glabrata* na formação de mata; **(h)** Epiderme abaxial de *P. glabrata* na formação de *Clusia*; **(i)** Epiderme abaxial de *P. glabrata* na formação praial com moitas; **(j)** Epiderme abaxial de *S. arenicola* na formação de mata; **(k)** Epiderme abaxial de *S. arenicola* na formação de *Clusia*; **(l)** Epiderme abaxial de *S. arenicola* na formação praial com moitas. As setas representam detalhes dos estômatos. Barras: 20 µm: a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l.

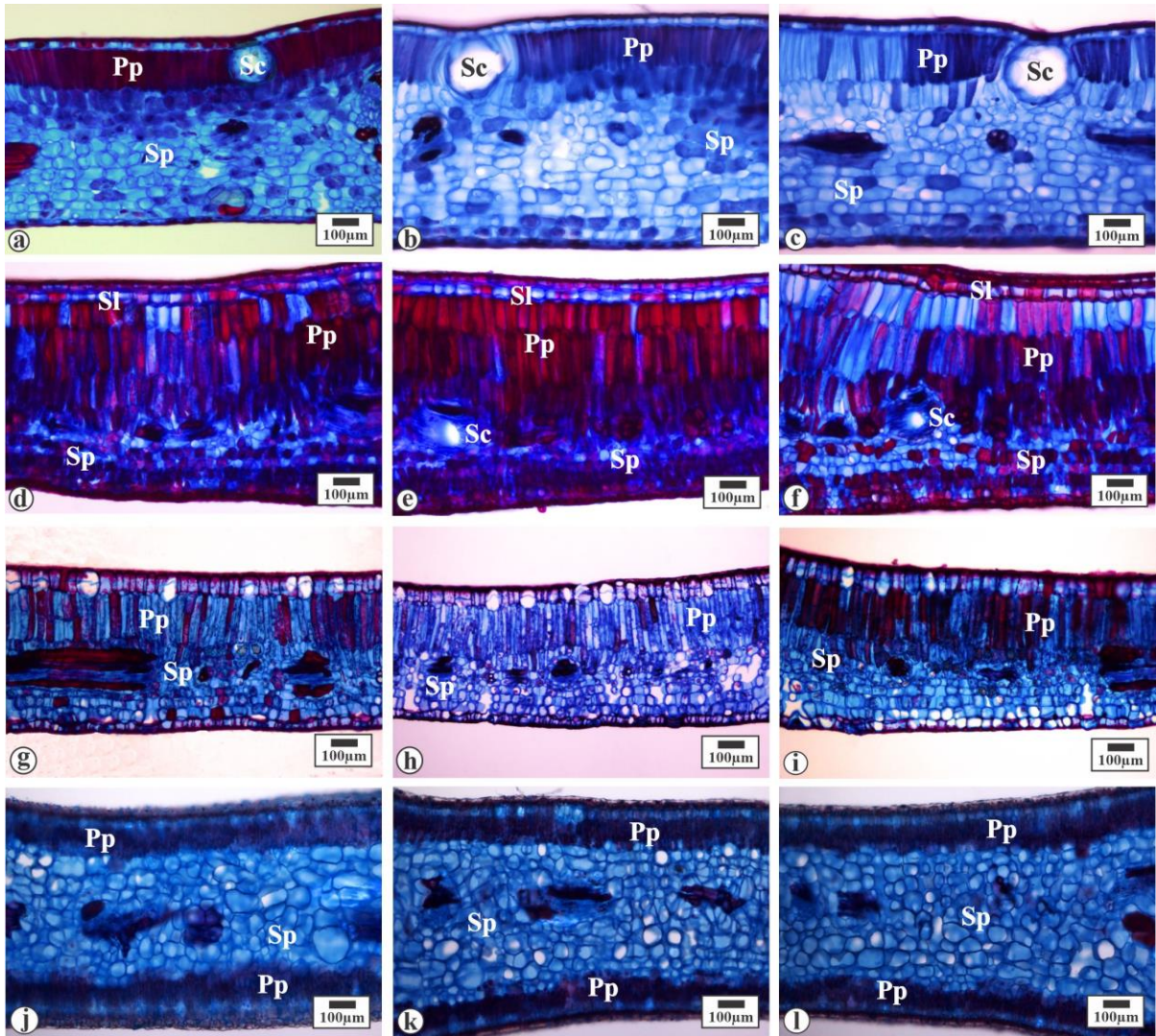


Figura 2: Anatomia foliar das espécies *E. uniflora*, *S. terebinthifolia*, *P. glabrata* e *S. arenicola* nas formações de mata de restinga, *Clusia* e praial com moitas. (a) Mesofilo de *E. uniflora* na formação de mata; (b) Mesofilo de *E. uniflora* na formação de *Clusia*; (c) Mesofilo de *E. uniflora* na formação praial com moitas; (d) Mesofilo de *S. terebinthifolia* na formação de mata; (e) Mesofilo de *S. terebinthifolia* na formação de *Clusia*; (f) Mesofilo de *S. terebinthifolia* na formação praial com moitas; (g) Mesofilo de *P. glabrata* na formação de mata; (h) Mesofilo de *P. glabrata* na formação de *Clusia*; (i) Mesofilo de *P. glabrata* na formação praial com moitas; (j) Mesofilo de *S. arenicola* na formação de mata; (k) Mesofilo de *S. arenicola* na formação de *Clusia*; (l) Mesofilo de *S. arenicola* na formação praial com moitas. As setas representam detalhes dos estômatos. Parênquima Lacunoso (Lp); Parênquima Paliçádico (Pp); Célula Secretora (Sc); Camada Subepidérmica (SI). Barras: 100 µm: a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l.

5.4.2 Plasticidade e Integração Fenotípica

A plasticidade fenotípica foi atribuída para cada atributo através do índice de plasticidade de distância relativa (RDPI). Deste modo, os atributos com $RDPI \geq 0.2$ foram considerados os mais plásticos. Para *E. uniflora* os atributos mais plásticos foram: *gs* ($RDPI_{traits} = 0.49$), *E* ($RDPI_{traits} = 0.45$), *A* ($RDPI_{traits} = 0.43$), *Y(II)* ($RDPI_{traits} = 0.27$), *LEA* ($RDPI_{traits} = 0.25$) e *STD* ($RDPI_{traits} = 0.23$) (Figura 3a; Tabela S2). Para *S. terebinthifolia* os atributos mais plásticos foram: *gs* ($RDPI_{traits} = 0.50$), *A* ($RDPI_{traits} = 0.40$), *E* ($RDPI_{traits} = 0.35$), *LEA* ($RDPI_{traits} = 0.25$) e *Y(II)* ($RDPI_{traits} = 0.20$) (Figura 3b; Tabela S2). Para *P. glabrata* os atributos mais plásticos foram: *A* ($RDPI_{traits} = 0.38$), *E* ($RDPI_{traits} = 0.35$), *Y(II)* ($RDPI_{traits} = 0.32$), *gs* ($RDPI_{traits} = 0.28$) e *LWMC* ($RDPI_{traits} = 0.24$) (Figura 3c; Tabela S2). Para *S. arenicola* os atributos mais plásticos foram: *STA* ($RDPI_{traits} = 0.32$), *gs* ($RDPI_{traits} = 0.30$), *E* ($RDPI_{traits} = 0.29$), *LWMC* ($RDPI_{traits} = 0.23$) e *A* ($RDPI_{traits} = 0.22$) (Figura 3d; Tabela S2). Adicionalmente foi calculado o $RDPI_{total}$ separadamente a nível de espécies. Dessa forma foi possível constatar que *E. uniflora* foi a espécie mais plástica ($RDPI_{total} = 19.53$), seguida por *S. terebinthifolia* ($RDPI_{total} = 15.94$), *S. arenicola* ($RDPI_{total} = 15.00$), e *P. glabrata* ($RDPI_{total} = 14.53$) (Figura 3).

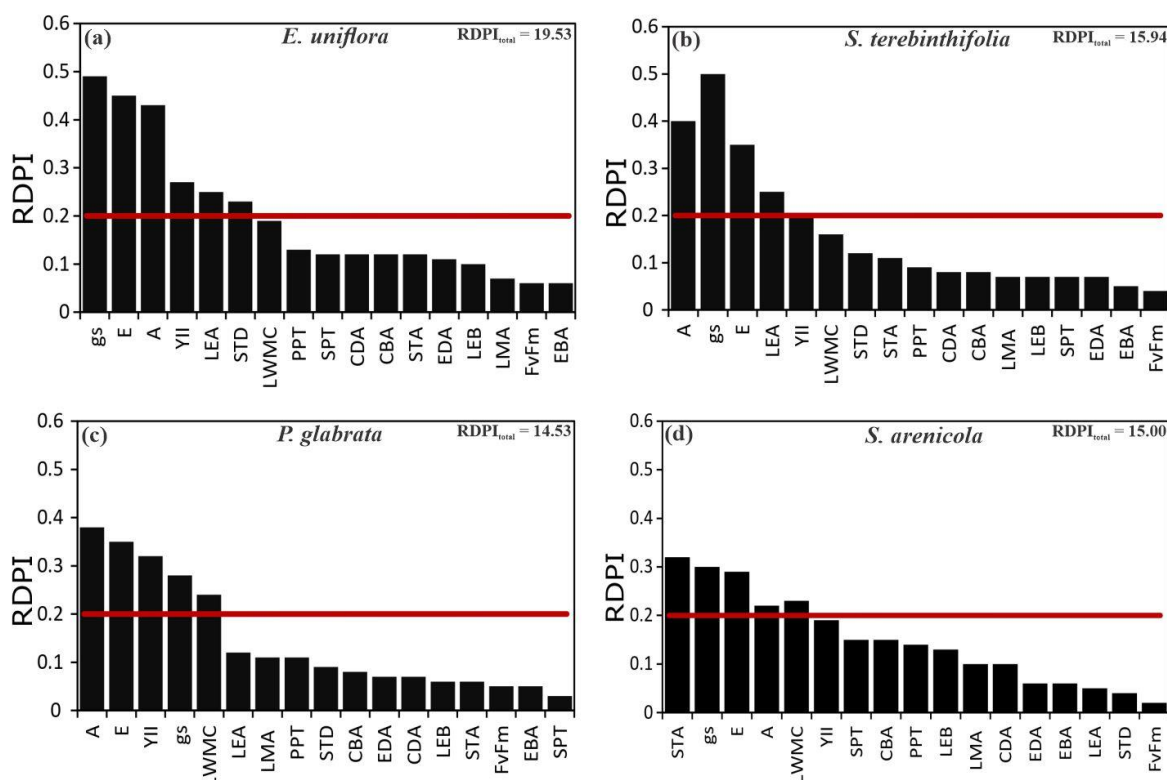


Figura 3: Índice de plasticidade de distância relativa calculado individualmente para cada atributo funcionais foliares ($RDPI_{traits}$) e individualmente por espécie ($RDPI_{total}$). Valores de $RDPI_{traits}$ e $RDPI_{total}$

calculado para *E. uniflora* (a), *S. terebinthifolia* (b), *P. glabrata* (c) e *S. arenicola* (d). A linha vermelha horizontal representa o valor de corte de $RDPI_{traits} \geq 0.2$ indicando os atributos mais plásticos. *A* – Taxa fotossintética líquida; *gs* – Condutância estomática; *E* – Taxa de transpiração; *Y(II)* – Rendimento quântico efetivo do PSII; F_v/F_m – Rendimento quântico máximo do PSII; *LEA* – Área foliar; *LWMC* – Conteúdo de água na folha; *LMA* – Massa foliar específica; *LEB* – Lâmina foliar; *PPT* – Parênquima paliçádico; *SPT* – Parênquima lacunoso; *EDA* – Epiderme adaxial; *CDA* – Cutícula adaxial; *EBA* – Epiderme abaxial; *CBA* – Cutícula abaxial; *STD* – Densidade de estômatos; *STA* – Área estomática.

A integração fenotípica foi calculada através da quantidade de correlações entre os atributos funcionais foliares a nível de espécie ($\%PI_{total}$) e por grupos de atributos funcionais ($PI_{estrutural}$ e $PI_{fisiológico}$). Através da matriz de correlação de Pearson ($P \leq 0.05$) foi possível constatar que as espécies que apresentaram maior integração fenotípica foram *E. uniflora* ($\%PI_{total} = 59.55\%$) e *S. arenicola* ($\%PI_{total} = 33.82\%$), enquanto, as espécies menos integradas foram *S. terebinthifolia* ($\%PI_{total} = 23.53\%$) e *P. glabrata* ($\%PI_{total} = 16.18\%$) (Figura 4A, B, C, D). Os maiores valores de $\%PI_{total}$ obtidos para *E. uniflora* e *S. arenicola* são reflexos dos altos valores encontrados para $PI_{estrutural}$ e em menor magnitude pelo $PI_{fisiológico}$ (Figura 5A, D). No caso de *S. terebinthifolia* e *P. glabrata* os menores valores de $\%PI_{total}$ são resultados das menores amplitudes e/ou ausências de variações entre o $PI_{estrutural}$ e $PI_{fisiológico}$ (Figura 5B, C). Os maiores valores de $\%PI_{total}$ e menores de $RDPI_{total}$ obtidos para *E. uniflora* ($\%PI_{total} = 59.55\%$ e $RDPI_{total} = 19.53$), *S. arenicola* ($\%PI_{total} = 33.82\%$ e $RDPI_{total} = 15.00$) e *S. terebinthifolia* ($\%PI_{total} = 23.53\%$ e $RDPI_{total} = 15.94$) foram alavancados pelos valores significativamente maiores de $PI_{estrutural}$ em relação ao $RDPI_{estrutural}$, o que não foi observado entre o $PI_{fisiológico}$ e $RDPI_{fisiológico}$ (Figura 5A, B, D). No caso de *P. glabrata* não foram observadas diferenças entre os PIs e RDPIs estruturais e fisiológicos, o que justifica a similaridade entre os valores de $\%PI_{total} = 16.18\%$ e $RDPI_{total} = 14.53$ (Figura 5C). Através da análise de regressão linear foi possível observar que *S. terebinthifolia* e *P. glabrata* foram as espécies que apresentarem relações positivas significativas entre RDPI e PI, o que não foi observado para *E. uniflora* e *S. arenicola* (Figura 6A, B, C, D; Tabela S3).

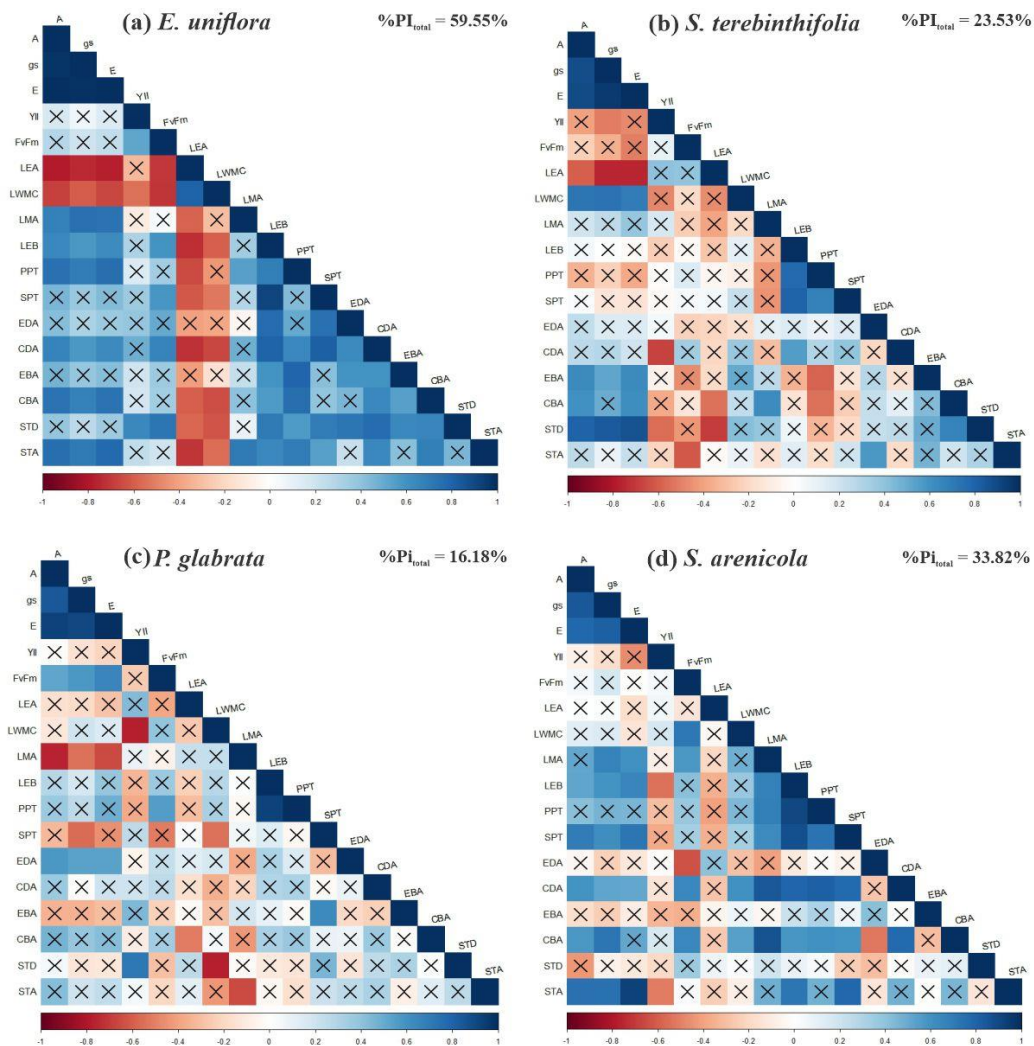


Figura 4: Matrizes de correlação de Pearson para os atributos foliares estruturais e fisiológicos para as espécies *E. uniflora* (a), *S. terebinthifolia* (b), *P. glabrata* (c) e *S. arenicola* (d) coocorrentes em diferentes formações vegetacionais de restinga da Mata Atlântica. A porcentagem de integração fenotípica total (%PI_{total}) também foi calculado para cada espécie. Valores do coeficiente de correlação podem ser identificados pela escala de cores. As correlações não significativas estão marcadas em “X”, enquanto as significativas ($P \leq 0.05$) não estão assinaladas com “X”. A - Taxa fotossintética líquida; gs - Condutância estomática; E - Taxa de transpiração; Y(II) - Rendimento quântico efetivo do PSII; Fv/Fm - Rendimento quântico máximo do PSII; LEA - Área foliar; LWMC - Conteúdo de água na folha; LMA - Massa foliar por área; LEB - Lâmina foliar; PPT - Paliçádico; SPT - Lacunoso; EDA - Epiderme adaxial; CDA - Cutícula adaxial; EBA - Epiderme abaxial; CBA - Cutícula abaxial; STD - Densidade de estômatos; STA - Área estomática.

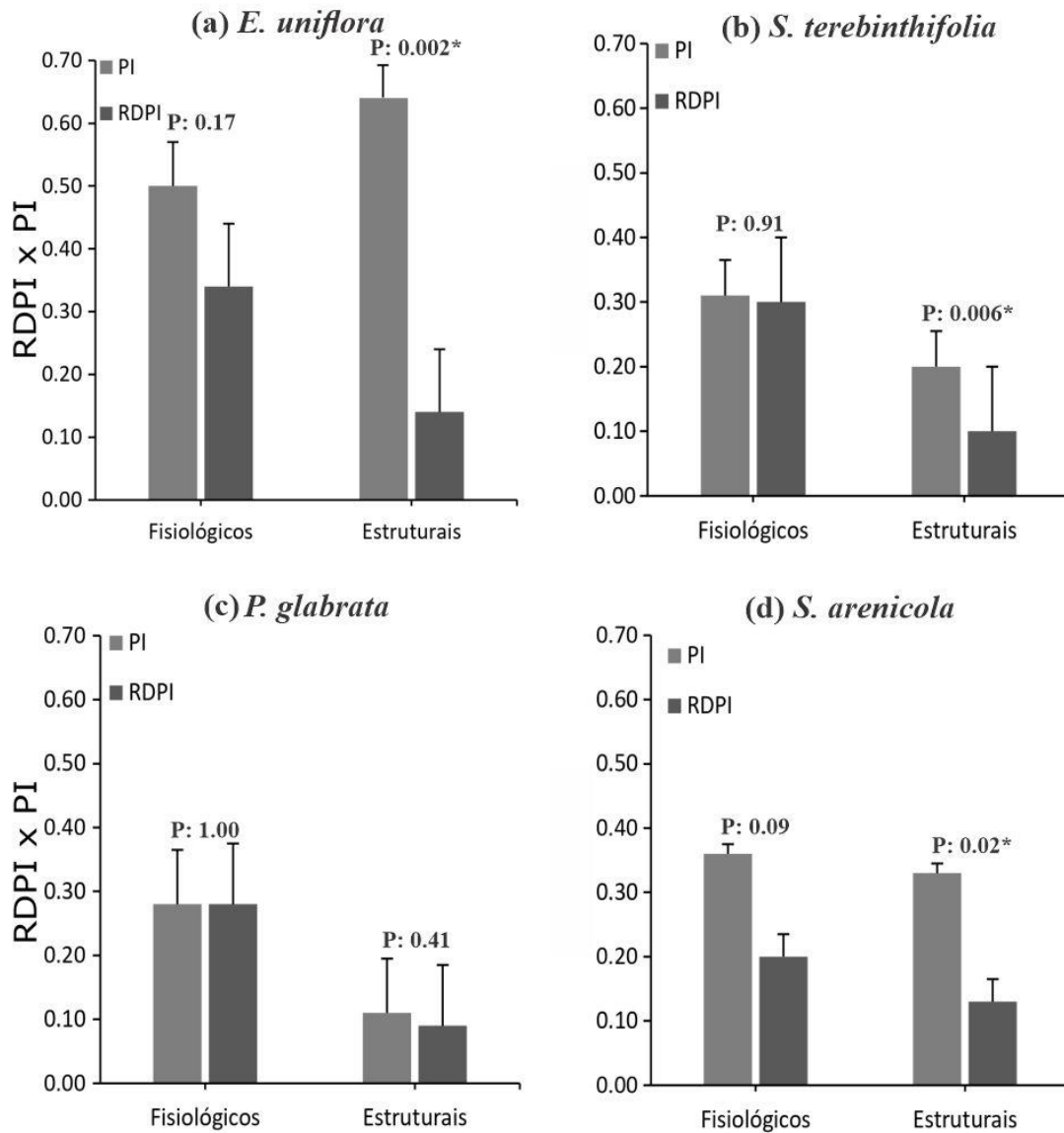


Figura 5: Valores médios (\pm desvio padrão) da relação entre plasticidade (RDPI) e integração fenotípica (PI) calculados separadamente por grupos de atributos funcionais (estruturais e fisiológicos) para as espécies *E. uniflora* (a), *S. terebinthifolia* (b), *P. glabrata* (c) e *S. arenicola* (d). Asteriscos denotam as diferenças significativas entre RDPI e PI (Permutation t test, $P < 0.05$).

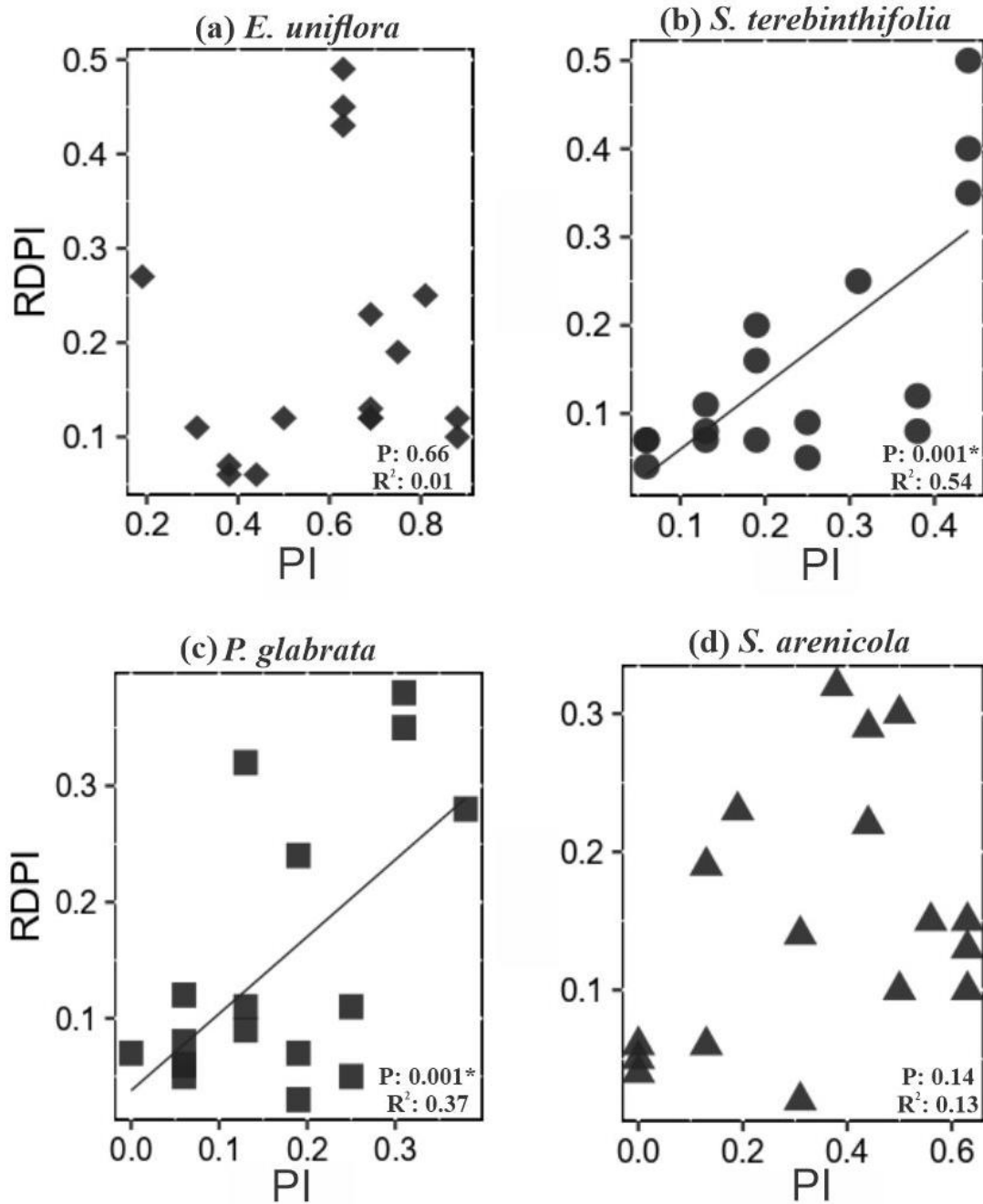


Figura 6: Modelos lineares entre plasticidade (RDPI) e integração fenotípica (PI) para as espécies *E. uniflora* (a), *S. terebinthifolia* (b), *P. glabrata* (c) e *S. arenicola* (d) em diferentes formações vegetacionais de restinga da Mata Atlântica. Mantivemos as linhas de tendência para as relações significativas ($P < 0.05$).

5.5 Discussão

Os resultados indicam que as espécies ajustam seus atributos funcionais foliares para coexistir em diferentes formações de restinga, sendo os atributos fisiológicos especialmente relevantes para a aclimação das espécies. Observou-se um padrão de ajuste para as espécies *S. terebinthifolia* e *P. glabrata*, pois a maioria dos seus atributos não apresentaram diferenças entre as formações vegetacionais, mas ainda assim, apresentaram ajustes foliares tanto plásticos como integrados. Em contraste, as espécies *E. uniflora* e *S. arenicola* apresentaram mais diferenças nos atributos entre as formações de restinga, com suas folhas investindo mais em integração do que em plasticidade, sendo uma possível estratégia para a sobrevivência em ambientes de baixa disponibilidade hídrica. A plasticidade e a integração fenotípica atuaram em conjunto como mecanismos que atuaram para a aclimação de espécies em distintas formações vegetacionais de restinga.

Quais foram os ajustes (i.e., estruturais e fisiológicos) que permitiram a coocorrência das espécies em formações de restinga?

As espécies *E. uniflora* e *S. terebinthifolia* apresentaram maiores áreas foliares na formação de mata de restinga, onde PAR é menos intenso. Melo Júnior et al. (2019) trabalharam com a espécie *S. terebinthifolia* em três formações vegetacionais de restinga, e encontraram maiores valores de LEA na formação arbórea. Segundo Rabelo et al. (2013) uma área foliar mais expandida auxilia em uma captura de luz mais eficiente, e consequentemente, menores áreas foliares se dão para evitar a perda de água para o ambiente. Pireda e colaboradores (2019) compararam espécies coocorrentes presentes em ambientes de floresta e restinga, e concluiu que os valores elevados de PAR foram determinantes para menores valores de LEA nas plantas de restinga. As espécies *P. glabrata* e *S. arenicola* não tiveram diferença significativa de área foliar entre as formações. Estas podem ter investido em uma maior quantidade de clorofila na formação mais sombreada, e em carotenoides nas formações com maior disponibilidade de PAR, como foi observado por Corrêa et al. (2020), em espécies coocorrentes em mata de restinga e formação de *Clusia*.

O teor de água nas folhas se mostrou mais elevado nas formações de *Clusia* e praias com moitas. Segundo Arruda e colaboradores (2009), este atributo é influenciado pela disponibilidade hídrica do ambiente, levando algumas espécies a acumularem água

em seus tecidos foliares. Pireda e colaboradores (2019) encontraram maior LWMC em espécies de restinga, quando comparados a espécies de floresta. A elevada disponibilidade de PAR presente nas formações de *Clusia* e praias com moitas podem ter levado as espécies a buscarem a estocagem de água (Melo Júnior et al., 2019). Um maior conteúdo de água foliar da espécie *E. uniflora* na mata de restinga pode refletir os valores elevados de temperatura e VPD encontrados nesta formação, onde espécies podem investir no armazenamento de água mesmo em ambientes de baixa disponibilidade de PAR. Conforme observado por Pessoa et al. (2021), espécies com cavidades secretoras ricas em mucilagem, abundantes na família Myrtaceae e Anacardiaceae, podem atuar como reservatórios alternativos de H₂O, permitindo ocupar ambientes com VPD mais elevado e de baixa disponibilidade hídrica.

Na formação praias com moitas, as espécies *E. uniflora* e *S. arenicola* apresentaram maior massa foliar por área e uma lâmina foliar mais espessa. Conforme observado por Melo Júnior e colaboradores (2019), espécies que se desenvolvem sob elevada intensidade luminosa podem apresentar folhas com maior LMA e LEB. Wright et al. (2004) concluem que, em ambientes de baixa disponibilidade hídrica, as plantas podem investir em uma maior quantidade de carbono para a construção foliar, levando a folhas duras, longevas e menos palatáveis a herbívoros, representando um mecanismo de defesa. Estudos conduzidos por Borges e colaboradores (2022) também mostraram relação entre LMA e LEB em espécies coocorrentes de área seca e alagada, sugerindo um possível investimento da planta em longevidade foliar em ambientes adversos. A lâmina foliar mais espessa nestas espécies resulta do espessamento do parênquima paliçádico e lacunoso, das epidermes e cutículas, podendo representar mecanismos de melhor absorção de luz e fixação do carbono, bem como uma forma de dissipação de calor (Simioni et al., 2017; Campbell et al., 2018). Esses ajustes foliares podem ser induzidos pela elevada disponibilidade de PAR no ambiente de restinga (Pireda et al., 2019). Por outro lado, as espécies *S. terebinthifolia* e *P. glabrata* não apresentaram essas alterações estruturais, possivelmente devido à pouca distância entre as formações vegetacionais e um investimento maior nos atributos fisiológicos (Corrêa et al., 2020).

Uma maior densidade de estômatos foi encontrada para as espécies *E. uniflora* e *S. terebinthifolia* na formação praias com moitas. Por outro lado, *S. arenicola* não apresentou diferenças significativas para STD entre as formações. A espécie *P. glabrata* demonstrou maior densidade e área estomática na formação de *Clusia*. Uma maior STA

foi encontrada nas espécies *E. uniflora* e *S. arenicola* na formação praial com moitas. Segundo Jordan et al. (2015), a variação do tamanho dos estômatos pode ter a influência de fatores genéticos e ambientais. Galmes et al. (2007) analisaram plantas mediterrâneas submetidas a diferentes níveis de estresse hídrico, e relataram que estômatos maiores podem proporcionar uma melhor captação de CO₂, facilitando assim as trocas gasosas. Geralmente, em ambientes com baixa disponibilidade hídrica e maior disponibilidade de PAR se encontram estômatos com menor área e em maior número, demonstrando uma capacidade de resposta rápida de abertura e fechamento, levando a uma diminuição da perda de água e um maior fluxo de CO₂ (Violet-Chabrand et al., 2017). Pireda et al. (2019) encontraram uma maior STD com uma menor STA para espécies de restinga quando comparadas com espécies coocorrentes de floresta, demonstrando que PAR, temperatura e VPD podem influenciar no tamanho e na quantidade de estômatos.

Do que diz respeito aos atributos fisiológicos, existe uma relação entre a taxa de assimilação de CO₂ (A), condutância estomática (g_s) e a taxa de transpiração (E). Observou-se que as trocas gasosas foram mais elevadas na formação praial com moitas para todas as espécies, visto que essa formação se mostra mais úmida e com menor VPD. Por outro lado, a mata de restinga apresentou os menores valores, possivelmente devido a maiores valores de temperatura e VPD. Segundo Pireda e colaboradores (2019), em ambientes de baixa disponibilidade hídrica, as plantas diminuem a condutância da folha para perder menos água por evapotranspiração, e conseqüentemente, acabam diminuindo a assimilação de carbono buscando uma maior eficiência no uso da água, como foi encontrado em suas espécies do ambiente de restinga. Em contrapartida, ambientes com maior disponibilidade hídrica aumentam seu g_s , possibilitando uma maior absorção do carbono. Esta conclusão foi feita quando se comparou o efeito do estresse hídrico nas trocas gasosas de plantas em diferentes condições ambientais por Zhou et al. (2013). Segundo Corrêa e colaboradores (2020), o baixo rendimento nas trocas gasosas das espécies na mata de restinga pode ter sido compensado por um solo mais enriquecido nutricionalmente e pelo investimento em pigmentos acessórios.

A presença de valores de F_v/F_m abaixo de 0.75 na mata de restinga pode indicar estresse, porém não resultou na diminuição do rendimento do PSII ($Y(II)$) para as espécies *S. terebinthifolia*, *P. glabrata* e *S. arenicola*. A espécie *E. uniflora* na formação de mata de restinga teve os menores valores de F_v/F_m e ($Y(II)$). Em plantas submetidas a estresse fotoquímico, pode se formar espécies reativas de oxigênio (ROS), que levam a

degradação das membranas tilacóides e de moléculas de clorofila, comprometendo assim o processo fotossintético (Demmig-Adams & Adams, 1996). Pireda e colaboradores (2019) observaram uma diminuição de $Y(II)$ em espécies de restinga em comparação com espécies coocorrentes de floresta. Essa diminuição acontece devido a alta disponibilidade de PAR, podendo ocorrer a degradação de moléculas de clorofila. Segundo Corrêa et al. (2020), que compararam espécies em formação de *Clusia* e mata de restinga, as espécies presentes na mata de restinga demonstraram um maior investimento em pigmentos acessórios (clorofilas e carotenoides) para proteção da maquinaria fotossintética. A formação de mata de restinga também oferece resistência à sobrevivência das espécies (valores de VPD e temperatura elevados, solo mais ácido e rico em H⁺Al). Possivelmente a espécie *E. uniflora* superou estas variáveis ambientais sintetizando pigmentos acessórios e integrando seus atributos funcionais foliares.

As estratégias aclimatativas desenvolvidas pelas espécies, em respostas as heterogeneidades ambientais das formações de restinga são espécie-específicas ou existe um padrão de resposta convergente?

Observamos um padrão aclimatativo para as espécies *S. terebinthifolia* e *P. glabrata*, visto que, a maior parte dos atributos funcionais foliares não apresentaram diferenças significativas entre as formações. As espécies investiram em mecanismos para evitar a perda de água, como por exemplo, LWMC e STD, e em eficiência fotossintética (A , $Y(II)$ e Fv/Fm). Borges e colaboradores (2022) compararam espécies coocorrentes em área seca e alagada, onde a espécie *Guarea guidonia* (L.) Sleumer também adotou um fenótipo conservador entre as áreas. Segundo Coyle et al. (2014), a filogenia das espécies pode ampliar ou limitar sua tolerância a fatores ambientais, sendo determinante nas respostas dos indivíduos. O fenótipo conservador pode estar ligado à filogenia das espécies, e relacionado à curta distância entre as formações vegetacionais, como foi observado por Corrêa et al. (2020) que trabalharam em mata de restinga e formação de *Clusia*.

Por outro lado, as espécies *E. uniflora* e *S. arenicola* responderam com ajustes significativos tanto fisiológicos quanto estruturais entre as formações vegetacionais. Estas apresentaram mecanismos de eficiência fotossintética (A , $Y(II)$, paliçádico e lacunoso) e de eficiência no uso da água (g_s , E e LMA). Pireda et al. (2019) demonstraram diferenças estruturais (área e lâmina foliar, paliçádico e lacunoso e cutículas) e fisiológicas (A , g_s , E

e *Y(II)*) quando compararam espécies coocorrentes de restinga e floresta, evidenciando ajustes foliares relevantes. Melo Jr. & Boeger (2016) apresentaram também diferenças estruturais (área foliar, paliçádico, lacunoso e densidade de estômatos) entre espécies de quatro formações de restinga (restinga herbácea, restinga arbustiva, arbustiva-arbórea e floresta de transição). Deste modo, ajustes funcionais foliares visando a eficiência fotossintética e a eficiência no uso da água podem ter sido fundamentais para a aclimação de *E. uniflora* e *S. arenicola* nas formações vegetacionais estudadas.

O processo de aclimação das espécies estudadas é mediado por ajustes plásticos e/ou integrados?

As análises de plasticidade e integração demonstraram que as espécies estudadas realizaram sua aclimação nas diferentes formações vegetacionais de restinga utilizando destes mecanismos. A alta plasticidade encontrada em todas as espécies para os atributos fisiológicos demonstrada nos gráficos de RDPI, pode ser explicada pelo fato, de a fisiologia responder de forma mais rápida às mudanças ambientais, quando comparado a atributos estruturais (Poot & Lambers 2008). Corroborando essa perspectiva, Corrêa et al. (2020) também identificaram uma maior plasticidade fisiológica, quando compararam espécies de bromélias em formação de mata de restinga e formação de *Clusia*. Portanto, a elevada plasticidade presente nos atributos fisiológicos pode ter induzido ajustes relevantes para uma eficiência fotossintética das espécies vegetais nas formações vegetacionais.

As espécies *S. terebinthifolia* e *P. glabrata* investiram tanto em plasticidade quanto em integração fenotípica. Esta correlação positiva foi observada por Matesanz et al. (2010), Pireda et al. (2019) e Borges et al. (2022), o que pode favorecer a aclimação da planta em ambientes heterogêneos. Godoy et al. (2012) afirmam que a plasticidade e a integração podem atuar em conjunto favorecendo a aptidão da planta. Este equilíbrio encontrado entre RDPI e PI (estrutural e fisiológico), pode ter contribuído para as espécies *S. terebinthifolia* e *P. glabrata* apresentar estas correlações positivas significativas, sendo possivelmente relevante para sua aclimação nas formações vegetacionais.

As espécies *E. uniflora* e *S. arenicola* demonstraram uma maior integração dos seus atributos, investindo menos em plasticidade. Zimmermann et al. (2016) encontraram resultados similares, onde observou alta integração fenotípica para a espécie *Casuarina equisetifolia* Blanco no ambiente de restinga, concluindo que esta característica aumentou

a sua chance de sobrevivência. Quando as plantas estabelecem padrões de integração entre seus atributos funcionais, as chances de obterem sucesso aclimatativo são elevadas (Pigliucci, 2003). Segundo Matesanz et al. (2021) a integração e a plasticidade são mecanismos alternativos utilizados pelas plantas para superarem as variáveis ambientais. Este maior investimento de *E. uniflora* e *S. arenicola* em integração fenotípica pode ter contribuído para a relação não-linear entre RDPI e PI encontrada nestas espécies.

A maior integração dos atributos estruturais para as espécies *E. uniflora*, *S. terebinthifolia* e *S. arenicola* pode indicar um investimento em estratégias de restrição à perda de água (espessura das epidermes e cutículas, densidade e área dos estômatos e conteúdo de água na folha) e captação de luz e CO₂ (paliçádico, lacunoso e área foliar). Segundo Poot & Lambers (2008), as espécies vegetais podem investir mais em integração do que em plasticidade, para se reduzir os *trade-offs* ambientais e o desenvolvimento de atributos não vantajosos. Vale ressaltar que, apesar da alta plasticidade fisiológica, todas as espécies estudadas apresentaram maior integração fisiológica do que plástica, porém não houve diferenças significativas, isso pode ser explicado pelo menor número de atributos fisiológicos analisados em comparação com o número de atributos estruturais. Borges et al. (2022) também encontraram resultados similares para a espécie *G. guidonia* em ambiente seco e alagado, indicando a importância da integração dos atributos fisiológicos para sobrevivência em ambientes adversos. Deste modo, é possível afirmar que a plasticidade e a integração fenotípica foram mecanismos que atuaram em conjunto para a aclimação de espécies vegetais em distintas formações vegetacionais de restinga.

5.6 Conclusão

As espécies *S. terebinthifolia* e *P. glabrata* adotaram um fenótipo de natureza mais conservadora, evidenciando ajustes plásticos e integrados dos seus atributos foliares. Estas espécies investiram em estratégias para minimizar a perda de água (LWMC e STD) e em eficiência fotossintética (*A*, *Y(II)* e *Fv/Fm*). Por outro lado, as espécies *E. uniflora* e *S. arenicola* apresentaram maiores diferenças entre seus atributos, assumindo fenótipos mais integrados, e investindo também em eficiência fotossintética (*A*, *Y(II)*, paliçádico e lacunoso) e em eficiência no uso da água (*gs*, *E* e LMA). Cabe salientar, que devido à proximidade entre as formações vegetacionais e as características microclimáticas e edáficas, os atributos fisiológicos tiveram papel relevante na aclimação das espécies, onde a plasticidade e a integração fenotípica atuaram em conjunto neste processo. Este

estudo assume uma relevância considerável na compreensão a dinâmica vegetal em ambientes de baixa disponibilidade hídrica e sua aclimatação, como também aumentar o sucesso de ações de restauração ecológica e de sobrevivência das espécies frente a eventos climáticos extremos.

5.7 Referências:

- Araújo, D. S. D. de & Henriques, R. P. B. 1984. Análise florística das restingas do Estado do Rio de Janeiro. Pp. 159-194. In: L. D. Lacerda; D. S. D. Araújo; R. Cerqueira; B. Turcq (Eds.) Restingas: Origem, Estrutura e Processos. CEUFF, Niterói.
- Araújo, I. et al. (2021) Intraspecific variation in leaf traits facilitates the occurrence of trees at the Amazonia–Cerrado transition. *Flora*, v. 279, p. 151829. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151829>
- Araújo, I. et al. (2022) Leaf functional traits and monodominance in Southern Amazonia tropical forests. *Plant Ecology*, v. 223, n. 2, p. 185-200. <https://doi.org/10.1007/s11258-021-01201-w>
- Arruda, R.C.O., Viglio, N.S.F. & Barros, A.A.M. (2009). Leaf anatomy of creeping halophytes and psammophiles occurring in the restinga of Ipitangas, Saquarema, Rio de Janeiro, Brazil. *Rodriguesia* 60 (2): 333-352. 2009. <https://doi.org/10.1590/2175-7860200960207>
- Assumpção, J.A.N. & Nascimento, M.T. (2000). Structure and floristic composition of four restinga plant formations in the Grussaí/Iquipari lagoon complex, R.J, Brazil. *Acta Botanica Brasílica* 14: 301-315. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062000000300007>
- Borges, N.L., Pireda, S., Oliveira, D.S. et al. 2022. The functional variability of the morphoanatomical and physiological traits of native species leaves in a flooded tropical forest. *Trees* (2022). <https://doi.org/10.1007/s00468-022-02332-x>
- Bündchen, M., Boeger, M.R.T., Reissmann, C.B. (2015). Leaf structure of canopy and understory woody species in a subtropical forest in southern Brazil. *Iheringia. Botanica Series* 70, 105–114.

- Cabral, R.D.C., Melo Júnior, J.C.F., Matilde-Silva, M. (2018). Leaf morphoanatomical plasticity in *Smilax campestris* (Smilacaceae) in restinga environmental gradient, SC, Brazil. *Hoehnea* 45(2): 173-183, 2018. <https://doi.org/10.1590/2236-8906-65/2017>
- Campbell, G., Mielke, M.S., Rabelo, G.R., Da Cunha, M. (2018). Key anatomical attributes for occurrence of *Psychotria schlechtendaliana* (Müll. Arg.) Müll. Arg. (Rubiaceae) in different successional stages of a tropical moist forest. *Flora*. 246, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.07.004>
- Coyle, J.R., Halliday, F.W., Lopez, B.E., Palmquist, K.A., Wilfahrt, P.A., & Hurlbert, A.H., 2014. Using trait and phylogenetic diversity to evaluate the generality of the stress- dominance hypothesis in eastern North American tree communities. *Ecography* 37, 814-826. <https://doi.org/10.1111/ecog.00473>
- Corrêa, L. M. C., Arrivabene, H. P., & Milanez, C. R. D. (2020). Leaf morpho-anatomical and physiological plasticity of two *Vriesea* species (Bromeliaceae) in Atlantic Coast restingas (Brazil). *Brazilian Journal of Development*, 6(9), 71706–71727. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n9-568>
- Da Cunha, M., Gomes, V.M., Xavier Filho, J., Attias, M., Souza, W., Miguens, F.C. (2000). Laticifer system of *Chamaesyce thymifolia*: a closed host environment for trypanosomatids. *Biocell* 24, 123–132.
- Dai, A. 2013. Increasing drought under global warming in observations and models. *Nature Clim Change* 3, 52–58 (2013). <https://doi.org/10.1038/nclimate1633>
- Demmig-Adams B., Adams W.W. III. (1996) The role of xanthophyll cycle carotenoids in the protection of photosynthesis. *Trends in Plant Science* 1: 21-26. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(96\)80019-7](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(96)80019-7)
- Embrapa, 2000. Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos. Rio de Janeiro, Brazil.
- Franklin, G.L. (1945). Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature* 155, 51. <https://doi.org/10.1038/155051a0>

- Galmes, J., Flexas, J., Savé, R. & Medrano, H. 2007. Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits. *Plant and Soil* volume 290, pages 139 –155 (2007). <https://doi.org/10.1007/s11104-006-9148-6>
- Genty, B., Briantais, J.M., Baker, N.R., 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 990, 87–92. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9)
- Godoy, O., Valladares, F., Castro-Díez, P., 2012. The relative importance for plant invasiveness of trait means, and their plasticity and integration in a multivariate framework. *New Phytol.* 195, 912–922. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04205.x>
- Gratani, L., Covone, F., Larcher, W. (2006). Leaf plasticity in response to light of three evergreen species of the Mediterranean maquis. *Trees* 20, 549–558. <https://doi.org/10.1007/s00468-006-0070-6>
- Grime, J.P. (1979). *Plant Strategies and Vegetation Processes*. John Wiley & Sons, Chichester.
- Hervé, M. 2021. Package ‘RVAideMemoire’ (V. 0.9-79). Testing and Plotting Procedures for Biostatistics. <https://CRAN.Rproject.org/package=RVAideMemoire>
- Hothorn, T., Bretz, F., Westfall, P., 2008. Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal: Journal of Mathematical Methods in Biosciences* 50, 346–363. <https://doi.org/10.1002/bimj.200810425>
- IPCC, 2021. *Climate Change 2021. Mitigation of Climate Change*
- Jordan, G.J., Carpenter, R.J., Koutoulis, A., Price, A., Brodribb, T.J. 2015. Environmental adaptation in stomatal size independent of the effects of genome size. *New Phytologist* (2015) 205:608–617. <https://doi.org/10.1111/nph.13076>
- Karnovsky, M.J. (1965). A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electronmicroscopy. *J Cell Biol.* 27, 137–138A.

- Kluge, M. & Ting, I.P. (1978). *Crassulacean Acid Metabolism: Analysis of an Ecological Adaptation*. Berlin, Springer-Verlag. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-67038-1>
- Koppen, W. (1948). *Climatologia: con estudio de los climas de la tierra*. Fondo de Cultura Económica. México. 479p.
- Levene, H. (1961). Robust tests for equality of variances. *Contributions to probability and statistics. Essays in honor of Harold Hotelling* 279–292. <https://doi.org/10.2307/2285659>
- Magnago, L.F.S., Rocha, M.F., Meyer, L., Martins, S.V. & Meiraneto, J.A.A. 2015. Microclimatic conditions at forest edges have significant impacts on vegetation structure in large Atlantic forest fragments. *Biodiversity and Conservation*, 24, 2305–2318. <https://doi.org/10.1007/s10531-015-0961-1>
- Matesanz, S., Blanco-Sánchez, M., Ramos-Muñoz, M., de la Cruz, M., Benavides, R. and Escudero, A. (2021), Phenotypic integration does not constrain phenotypic plasticity: differential plasticity of traits is associated to their integration across environments. *New Phytol*, 231: 2359-2370. <https://doi.org/10.1111/nph.17536>
- Matesanz, S., Gianoli, E., Valladares, F. 2010. Global change and the evolution of phenotypic plasticity in plants. *Year in evolutionary biology. Annals of the New York Academy of Sciences* 1206: 35–55. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05704.x>
- Melo Jr, J.C.F., Boeger, M.R.T. (2016). Leaf traits and plastic potential of plant species in a light-edaphic gradient from a Restinga in southern Brazil. *Acta biol. Colomb.* 2016;21(1):51-62. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15446/abc.v21n1.47621>
- Melo Jr, J.C.F., Boeger, M.R.T. 2018. Riqueza e estrutura de uma comunidade vegetal de dunas na planície costeira de Santa Catarina. *Iheringia, Série Botânica.*, 73(3), 290–297. <https://doi.org/10.21826/2446-8231201873306>
- Melo Junior, J.C.F., Gonçalves, T.M., Jardim, R.I.L. (2019) Structural adaptations and plastic potential of *Schinus terebinthifolia* Raddi. (Anacardiaceae) in different restinga formations. *Brazilian Journal of Physical Geography* v.12, n.06 (2019) 2218-2238. <https://doi.org/10.26848/rbgf.v12.6.p2218-2238>

- Murray-Smith, C., Brummitt, N.A., Filho, A.T.O., Bachman, S., Moat, J., Lughadha, E.M., Lucas, E.J. 2009. Plant Diversity Hotspots in the Atlantic Coastal Forests of Brazil. *Conservation Biology* p 151-163. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.01075.x>
- Myers, N., Mittermeier, R., Mittermeier, C., Fonseca, G., & J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priority. *Nature* 403, 853–858 (2000). <https://doi.org/10.1038/35002501>
- Perez-Harguindeguy, N., Díaz, S., Garnier, E., Lavorel, S., Poorter, H., Jaureguiberry, P. et al. (2013). New Handbook for standardized measurement of plant functional traits worldwide. *Aust. J. Bot.* 61, 167–234. https://doi.org/10.1071/BT12225_CO
- Pessoa, M.J.G., Pireda, S., Simioni, P.F., Bautz, N., Da Cunha, M. (2021). Structural and histochemical attributes of secretory ducts and cavities in leaves of four species of Calophyllaceae J. Agardh in Amazonian savannas. *Plant Biol.* <https://doi.org/10.1111/plb.13321>
- Pigliucci, M. (2003). Phenotypic integration: studying the ecology and Evolution of complex phenotypes. *Ecology Letters*, 6(3), 265-272. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00428.x>
- Pireda, S., Oliveira, D.O., Borges, N.L., Amaral, G.F., Barroso, L.M., Simioni, P., Vitória, A.P., Da Cunha, M. (2019). Acclimatization capacity of leaf traits of species co-occurring in restinga and seasonal semideciduous forest ecosystems. *Environmental and Experimental Botany* 164. 190–202. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.05.012>
- Pireda, S., Oliveira, D.O., Borges, N.L., Amaral, G.F., Barroso, L.M., Simioni, P., Vitória, A.P., Da Cunha, M. (2020). Data on leaf structural, physiological and nutritional characteristics of species co-occurring in restinga and semideciduous seasonal forest ecosystems. *Data in Brief* 30 (2020) 105484. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2020.105484>
- Poot, P., Lambers, H., 2008. Shallow-soil endemics: adaptive advantages and constraints of a specialized root-system morphology. *New Phytologist* 178: 371–381. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02370.x>

- Rabelo, G. R., Vitória, Â. P., da Silva, M. V., Cruz, R. A., Pinho, E. I., Ribeiro, D. R., Freitas, A. V. & Da Cunha, M. (2013). Structural and ecophysiological adaptations to forest gaps. *Trees*, 27(1), 259-272. <https://doi.org/10.1007/s00468-012-0796-2>
- Rasband, W.S. (1997–2008). ImageJ. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, MA, United States. Available online at: <https://imagej.nih.gov/ij/>
- R Core Team, (2022). R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.
- Scarano, F.R. Structure, Function and Floristic Relationships of Plant Communities in Stressful Habitats Marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest, *Annals of Botany*, Volume 90, Issue 4, 1 October 2002, Pages 517–524, <https://doi.org/10.1093/aob/mcf189>
- Scarano, F.R., Ceotto, P. Brazilian Atlantic forest: impact, vulnerability, and adaptation to climate change. *Biodivers Conserv* 24, 2319–2331 (2015). <https://doi.org/10.1007/s10531-015-0972-y>
- Schlichting, C.D., 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 17, 667–693.
- Schlichting, C.D., Pigliucci, M., 1998. *Phenotypic Evolution: A Reaction Norm Perspective*. Sinauer Associates Incorporated.
- Shapiro, S.S., Wilk, M.B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52, 591–611. <https://doi.org/10.2307/2333709>
- Simioni, P.F., Eisenlohr, P.V., Pessoa, M.J.G., Silva, I.V. (2017) Elucidating adaptive strategies from leaf anatomy: do Amazonian savannas present xeromorphic characteristics? *Flora*, 226, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2016.11.004>
- SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. (2019-2020). Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica.
- Sultan, S.E., 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* 5: 537-542. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01797-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01797-0)

- Urban, M. C. (2015). Accelerating extinction risk from climate change. *Science*, 348(6234), 571-573. <https://doi.org/10.1126/science.aaa4984>
- Valladares, F., Gianoli, E., Gómez, J.M., 2007. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytologist* 176: 749–763. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02275.x>
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D., Zavala, M.A., 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *J. Ecol.* 94, 1103–1116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01176.x>
- Valladares, F., Wright, S.J., Lasso, E., Kitajima, K., Pearcy, R.W., 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rain forest. *Ecology* 81, 1925–1936. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2000\)081\[1925:PPRTLO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2000)081[1925:PPRTLO]2.0.CO;2)
- Van Kooten, O., Snel, J.F.H., 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth. Res.* 25, 147–150. <https://doi.org/10.1007/BF00033156>
- Vialet-Chabrand, S. R., Matthews, J. S., McAusland, L., Blatt, M. R., Griffiths, H., & Lawson, T. (2017). Temporal dynamics of stomatal behavior: modeling and implications for photosynthesis and water use. *Plant physiology*, 174(2), 603-613. <https://doi.org/10.1104/pp.17.00125>
- Villela, D.M., Silva, A.P., Bonadiman, G.S.L., Souza, A.S., Pires, R.S. (2020) *Clusia hilariana*, a key species on nutrient cycling in sand dune vegetation thickets. *O ecol. Aust.* 24(2):420–437. <https://doi.org/10.4257/oeco.2020.2402.13>
- Walters, R.G., 2005. Towards an understanding of photosynthetic acclimation. *Journal of experimental botany*, 56(411), pp.435-447. <https://doi.org/10.1093/jxb/eri060>
- Weyers, J.D.B., Meidner, H. (1990). *Methods in Stomatal Research*. Longman, Harlow
- Wright, I., Reich, P., Westoby, M. et al. (2004) The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* 428, 821–827. <https://doi.org/10.1038/nature02403>

Zhou, S., Duursma, R.A., Medlyn, B.E., Kelly, J.W., Prentice, I.C., 2013. How should we model plant responses to drought? An analysis of stomatal and non-stomatal responses to water stress. *Agric. For. Meteorol.* 182, 204–214. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2013.05.009>

Zimmermann, T. G., Andrade, A. C., & Richardson, D. M. (2016). Experimental assessment of factors mediating the naturalization of a globally invasive tree on sandy coastal plains: a case study from Brazil. *AoB Plants*, 8, plw042. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw042>

5.8 Apêndice

Respostas aclimatativas de plantas coocorrentes em formações vegetacionais de uma floresta tropical

Dhiego da Silva Oliveira¹; Priscila Fernanda Simioni²; Igor Araújo³; Saulo Pireda²; Gabriel Silva de Oliveira¹; Gabriel do Amaral Ferreira⁴; Maura Da Cunha¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Recursos Naturais - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy - Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil.

³ Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação - Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus Nova Xavantina, Nova Xavantina, MT, Brasil.

⁴ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal/Universidade Estadual do Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Tabela S1: Atributos funcionais foliares de árvores coocorrentes em formações vegetacionais de restinga da Mata Atlântica. ^{1:} Borges et al., 2022; ^{2:} Bündchen et al., 2015; ^{3:} Grime, 1979; ^{4:} Pireda et al., 2019; ^{5:} Bezerra et al., 2020; ^{6:} Campbell et al., 2018; ^{7:} Melo Jr & Boeger, 2016; ^{8:} Gratani et al., 2006; ^{9:} Weyers & Meidner, 1990; ^{10:} Pireda et al., 2019; ^{11:} Wright et al., 2004; ^{12:} Zhou et al., 2013; ^{13:} Pireda et al., 2019; ^{14:} Walters, 2005; ^{15:} Borges et al., 2022.

Traits	Acronym	Unit	Functional significance
Leaf area	LEA	cm ²	Light capture ¹
Leaf water mass content	LWMC	mg g ⁻¹	Leaf temperature reduction and protection against desiccation ²
Leaf mass area	LMA	g.m ⁻²	Resource uptake, resource use efficiency, structural defense and growth strategies ³
Leaf blade	LEB	μm	Resource acquisition and use, and resistance to physical damage ⁴
Palisade parenchyma thickness	PPT	μm	Photosynthetic processes ⁵
Spongy parenchyma thickness	SPT	μm	Gas exchange ⁶
Abaxial and adaxial cuticle thickness	CBA/ CDA	μm	Water conservation ⁷
Abaxial and adaxial epidermis thickness	EBA/ EDA	μm	Light and heat dissipation ⁸
Stomatal density	STD	mm ⁻²	Carbon assimilation and water use efficiency ⁹
Stomatal area	STA	μm	Efficiency and conservation of water use ¹⁰
Liquid photosynthetic rate	A	μmol m ⁻² s ⁻¹	Assimilation of photosynthetic CO ₂ ¹¹
Stomatal conductance	gs	mmol m ⁻² s ⁻¹	Restriction of water loss and CO ₂ capture ¹²
Transpiration rate	E	mol m ⁻² s ⁻¹	Restriction of water loss ¹³
Quantum yield of PSII	Y (II)	***	Energy used in the photochemical process by PSII ¹⁴
Maximum PSII quantum yield	Fv/Fm	***	Photochemical stress indicator ¹⁵

Tabela S2: Índice de plasticidade de distância relativa (RDPI) dos atributos foliares estruturais e fisiológicos para as espécies coocorrentes em formações vegetacionais de restinga da Mata Atlântica. Os valores variam de 0 a 1, os mais próximos de 1 indicam atributos mais plásticos.

		RDPI			
Traits / Species		<i>E. uniflora</i>	<i>S. terebinthifolia</i>	<i>P. glabrata</i>	<i>S. arenicola</i>
Structural	Leaf area	0.25	0.25	0.12	0.05
	Leaf water content	0.19	0.16	0.24	0.23
	Specific leaf mass	0.07	0.07	0.11	0.10
	Leaf blade	0.10	0.07	0.06	0.13
	Palisade	0.13	0.09	0.11	0.14
	Spongy	0.12	0.07	0.03	0.15
	Adaxial ep.	0.11	0.07	0.07	0.06
	Adaxial cut.	0.12	0.08	0.07	0.10
	Abaxial ep.	0.06	0.05	0.05	0.06
	Abaxial cut.	0.12	0.08	0.08	0.15
	Stomatal density	0.23	0.12	0.09	0.04
	Stomatal area	0.12	0.11	0.06	0.32
Physiology	<i>A</i>	0.43	0.40	0.38	0.22
	<i>gs</i>	0.49	0.50	0.28	0.30
	<i>E</i>	0.45	0.35	0.35	0.29
	<i>Y(II)</i>	0.27	0.20	0.32	0.19
	<i>F_v/F_m</i>	0.06	0.04	0.05	0.02

Tabela S3: Modelos lineares entre a relação de índice de plasticidade de distância relativa (RDPI) e integração fenotípica (PI) nos atributos foliares estruturais e fisiológicas para as árvores coocorrentes em formações vegetacionais de restinga da Mata Atlântica.

Species/Coefficients		Estimate Std.	Error	t value	Pr (> t)
<i>E. uniflora</i>	(Intercept)	0.148	0.112	1.317	0.208
	PI	0.079	0.179	0.442	0.665
<i>S. terebinthifolia</i>	(Intercept)	-0.013	0.047	-0.282	0.781
	PI	0.729	0.173	4.202	0.001
<i>P. glabrata</i>	(Intercept)	0.038	0.043	0.885	0.390
	PI	0.662	0.224	3.001	0.001
<i>S. arenicola</i>	(Intercept)	0.098	0.041	2.408	0.029
	PI	0.154	0.100	1.340	0.145

6. Discussão Geral

Nossos resultados referentes às análises interespecíficas demonstraram uma similaridade entre as formações de mata de restinga, de *Clusia* e praias com moitas, podendo estar relacionada à curta distância entre as formações vegetacionais e/ou condições microclimáticas semelhantes. Algumas características ajudaram na colonização destas espécies, como: células epidérmicas de parede reta e espessa e folha hipostomática. A formação praias graminóide se separou das demais formações, pois desenvolveu características exclusivas como: parênquima aquífero e bainha de Kranz. Estas características foram relevantes para a sobrevivência das espécies próximo à linha de maré. O estudo das análises intraespecíficas demonstrou que existe um padrão de ajuste para as espécies *S. terebinthifolia* e *P. glabrata*, visto que, a maioria dos seus atributos não teve diferenças entre as formações vegetacionais, apresentando ajustes foliares plásticos e integrados. As espécies *E. uniflora* e *S. arenicola* demonstraram maiores diferenças nos atributos entre as formações vegetacionais, com suas folhas investindo mais em integração do que em plasticidade. A plasticidade e a integração fenotípica foram mecanismos que atuaram em conjunto para a aclimação de espécies coocorrentes em distintas formações vegetacionais de restinga.

A presente tese foi dividida em dois capítulos, onde no primeiro capítulo analisamos a aclimação das espécies a nível interespecífico em quatro formações vegetacionais de restinga. No segundo capítulo, as espécies coocorrentes de três formações foram analisadas através de mecanismos de plasticidade e integração fenotípica.

Através das análises aclimatativas a nível interespecífico, foi possível observar uma similaridade entre as formações de mata de restinga, de *Clusia* e praias com moitas. As espécies destas formações compartilharam características foliares como: células epidérmicas de parede reta e espessa, folha hipostomática e cutícula espessa e estriada. Melo Jr. & Boeger (2016) relatam que estas características xeromórficas são amplamente encontradas em plantas de restinga, e são determinantes para auxiliar na reflexão de luz incidente, evitar o excesso de irradiância e conseqüentemente, o aquecimento do mesófilo foliar. Segundo Cabral e colaboradores (2018), o ajuste de atributos estruturais foliares, como espessura de células epidérmicas e cutículas, densidade de estômatos e área foliar, podem levar à aclimação das espécies em diferentes formações de restinga.

As espécies da comunidade praial graminóide se separaram das demais comunidades, ao desenvolverem características exclusivas como: parênquima aquífero, bainha de Kranz, células buliformes e mesofilo isobilateral. Segundo Assumpção & Nascimento (2000), esta formação é altamente seletiva para a colonização das espécies vegetais. Estas estratégias podem auxiliar no armazenamento e economia de água, direcionamento de luz com menos danos fotoinibitórios e trocas gasosas mais eficientes (Arruda et al., 2009).

Esta diferença entre as formações vegetacionais foi confirmada quando comparamos os atributos estruturais foliares, onde a comunidade praial graminóide apresentou valores mais elevados que as outras comunidades de: área e espessura foliar, conteúdo de água na folha, espessura das epidermes e do paliçádico. O armazenamento de água nos tecidos através da formação de parênquima aquífero pode ser uma estratégia importante em situações de baixa disponibilidade hídrica (Arruda et al., 2009). Esta estratégia unida ao aumento da espessura do parênquima paliçádico e lacunoso, tornam o tecido foliar mais espesso, levando a uma melhor distribuição de luz e captação de CO₂ (Rêgo et al., 2013; Cabral et al., 2018). Células epidérmicas e cutículas mais espessas também podem ajudar as plantas desta comunidade a controlarem a temperatura da folha (Dickison, 2000).

A partição de variância nos revelou que a identidade taxonômica foi mais relevante do que a vegetação no controle da variação das características foliares. Estas características foram observadas por Emilio e colaboradores (2021), ao analisar folhas de palmeira. Uma possível competição por recursos e limitações na disponibilidade de água e nutrientes, podem ter induzido esta variação (Araújo et al., 2021). Foram analisadas espécies vegetais de diversas famílias botânicas no estudo, onde possivelmente a identidade taxonômica se mostrou importante para superar as variáveis ambientais de ambientes adversos (Bedetti et al., 2011).

No segundo capítulo foram realizadas análises a nível intraespecífico, onde se observou a coocorrência de *E. uniflora*, *S. terebinthifolia*, *P. glabrata* e *S. arenicola* entre as formações de mata de restinga, de *Clusia* e praial com moitas, onde estas espécies ajustaram seus atributos funcionais foliares para a colonização nestas formações. As espécies *S. terebinthifolia* e *P. glabrata* demonstraram um padrão aclimatativo, sem ampla variação nos atributos foliares entre as formações vegetacionais, investindo em conservação de água (LWMC e STD) e eficiência fotossintética (*A*, *Y(II)* e *Fv/Fm*). Corrêa

e colaboradores (2020) e Borges e colaboradores (2022) também encontraram um fenótipo conservador nas suas espécies trabalhadas, indicando que o processo de aclimação destas se dá por meio de alguns atributos-chave. Segundo Coyle e colaboradores (2014), a identidade taxonômica das espécies pode ter ampliado a tolerância a fatores ambientais adversos.

A aclimação destas espécies teve o investimento tanto em plasticidade quanto em integração, apresentando correlação positiva. Resultados similares foram encontrados por Matesanz et al. (2010), Pireda et al. (2019) e Borges et al. (2022), indicando uma melhor sobrevivência em ambientes heterogêneos. A plasticidade e a integração fenotípica, quando atuam em conjunto, acabam favorecendo a aptidão das plantas a superarem as variáveis ambientais impostas no ambiente de restinga (Godoy et al., 2012; Pireda et al., 2019). A variação de alguns atributos-chave unidos a mecanismos de plasticidade e integração pode ter contribuído para a colonização de *S. terebinthifolia* e *P. glabrata* nas formações vegetacionais.

As espécies *E. uniflora* e *S. arenicola* apresentaram ampla variação nos atributos estruturais e fisiológicos entre as formações vegetacionais, investindo em eficiência fotossintética (*A*, *Y(II)*, paliçádico e lacunoso) e em eficiência no uso da água (*gs*, *E* e *LMA*). Melo Jr. & Boeger (2016), Cabral et al. (2018) e Pireda et al. (2019) relatam que esta variação nos atributos foliares é relevante para a aclimação no ambiente de restinga. Cabral e colaboradores (2018) concluem que esta variação revela diferentes graus de xeromorfismo, sendo mais acentuado em formações próximas ao mar, e menos acentuado em formações mais distantes do mar.

O mecanismo de aclimação destas espécies se demonstrou mais integrado do que plástico. Pigliucci (2003) e Zimmermann et al. (2016) afirmam que a integração fenotípica aumenta as chances de sobrevivência em ambientes adversos e dão uma maior possibilidade de sucesso aclimatativo. Pireda e colaboradores (2019) afirmam que a plasticidade e a integração podem favorecer as espécies a vencerem as intempéries ambientais do ecossistema de restinga. Uma ampla variação dos atributos foliares unidos a mecanismos de integração fenotípica podem ter levado a ampla distribuição das espécies *E. uniflora* e *S. arenicola* entre as formações de restinga.

7. Conclusões Gerais

Através das análises detalhadas do presente trabalho podemos concluir que:

- O ecossistema de restinga da Mata Atlântica se trata de um ambiente complexo e dinâmico, apresentando formações vegetacionais com características microclimáticas e edáficas distintas, sendo extremamente seletiva para a colonização das espécies vegetais.
- Para as espécies vegetais se aclimatarem nas diferentes formações vegetacionais de restinga, foi necessário o ajuste de atributos foliares estruturais e fisiológicos.
- Existe uma similaridade entre as formações de mata de restinga, de *Clusia* e praial com moitas, onde as espécies investiram em: células epidérmicas de parede reta e espessa, folha hipostomática e cutícula espessa e estriada para a colonização nestas formações.
- A formação praial graminóide se distinguiu das demais comunidades vegetais, visto que as espécies desta comunidade apresentaram características exclusivas: parênquima aquífero, bainha de Kranz, células buliformes e mesofilo isobitateral.
- A análise dos atributos estruturais confirmou esta diferença interespecífica entre as formações vegetacionais.
- A identidade taxonômica das espécies se mostrou mais relevante do que a vegetação, no controle da variação das características foliares estudadas.
- Para a coocorrência das espécies *E. uniflora*, *S. terebinthifolia*, *P. glabrata* e *S. arenicola* nas formações de mata de restinga, formação de *Clusia* e praial com moitas, foi necessário o ajuste de atributos foliares estruturais e fisiológicos.
- A variação de alguns atributos-chave unidos a mecanismos de plasticidade e integração podem ter contribuído para a colonização de *S. terebinthifolia* e *P. glabrata* nas formações vegetacionais.
- Uma ampla variação dos atributos foliares unidos a mecanismos de integração fenotípica podem ter levado à ampla distribuição das espécies *E. uniflora* e *S. arenicola* entre as formações de restinga.
- Os atributos fisiológicos tiveram papel relevante na aclimação das espécies, devido à sua resposta mais rápida em relação aos atributos estruturais.

- A plasticidade e a integração fenotípica são mecanismos que atuaram em conjunto no processo de aclimatação das espécies estudadas.

- Nossos resultados indicam mudanças esperadas na distribuição e no funcionamento de formações vegetacionais da Mata Atlântica, caracterizada por grandes manchas de degradação ambiental.

8. Referências:

Araújo, D.S.D., 2000. Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras. Publicado por: NUPEM/UFRJ Macaé, RJ.

Araújo, D. S. D. de & Henriques, R. P. B. 1984. Análise florística das restingas do Estado do Rio de Janeiro. Pp. 159-194. In: L. D. Lacerda; D. S. D. Araújo; R. Cerqueira; B. Turcq (Eds.) Restingas: Origem, Estrutura e Processos. CEUFF, Niterói.

Araújo I et al. (2021) Intraspecific variation in leaf traits facilitates the occurrence of trees at the Amazonia–Cerrado transition. *Flora*, v. 279, p. 151829. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2021.151829>

Arruda, R.C.O., Viglio, N.S.F. & Barros, A.A.M (2009). Leaf anatomy of creeping halophytes and psammophiles occurring in the restinga of Ipitangas, Saquarema, Rio de Janeiro, Brazil. *Rodriguesia* 60 (2): 333-352. 2009. <https://doi.org/10.1590/2175-7860200960207>

Assis, A., Pereira, O., Thomaz, L. (2004). Fitossociologia de uma floresta de restinga no Parque Estadual Paulo César Vinha, Setiba, município de Guarapari (ES). *Revista Brasileira de Botânica*. 27. 349-361.

Assumpção, J.A.N & Nascimento, M.T (2000). Structure and floristic composition of four restinga plant formations in the Grussaí/Iquipari lagoon complex, R.J, Brazil. *Acta Botanica Brasílica* 14: 301-315. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062000000300007>

Bedetti, C.S., Aguiar, D.B., Jannuzzi, M.C., Moura, M.Z., Silveira, F.A., 2011. Abiotic factors modulate phenotypic plasticity in an apomictic shrub [*Miconia albicans* (SW.) Triana] along a soil fertility gradient in a Neotropical savanna. *Australian Journal of Botany* 59, 274–282. <https://doi.org/10.1071/BT10275>

- Bolhàr-Nordenkamp, H.R., Long, S.P., Baker, N.R. (1989) Chlorophyll fluorescence as probe of the photosynthetic competence of leaves in the field: a review of current instrument. *Funct Ecol* 3:497–514. <https://doi.org/10.2307/2389624>
- Borges, N.L., Pireda, S., Oliveira, D.S. et al. The functional variability of the morphoanatomical and physiological traits of native species leaves in a flooded tropical forest. *Trees* 36, 1837–1851 (2022). <https://doi.org/10.1007/s00468-022-02332-x>
- Bradshaw, A. D. (1965). Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. In *Advances in genetics* (Vol. 13, pp. 115-155). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2660\(08\)60048-6](https://doi.org/10.1016/S0065-2660(08)60048-6)
- Brito, M. R. M., Lion, M. B., Oliveira, I. F., & Cardoso, M. Z. 2021. Butterflies on the dry edge of the Atlantic Forest: water availability determines community structure at the Northern limit of Atlantic Forest. *Insect Conservation and Diversity*, 14, 476–491. <https://doi.org/10.1111/icad.12474>
- Buzzetti, D. R. C. 2000. Distribuição altitudinal de aves em Angra dos Reis e Parati, sul do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. In: Alves, M. A. S., Silva, J. M. C., Van Sluys, M., Bergallo, H. G. e Rocha, C. F. D. (eds.). *A ornitologia no Brasil: pesquisa atual e perspectivas*. pp. 131–148. Rio de Janeiro: Editora da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
- Cabral, R.D.C., Melo Júnior, J.C.F., Matilde-Silva, M. (2018). Leaf morphoanatomical plasticity in *Smilax campestris* (Smilacaceae) in restinga environmental gradient, SC, Brazil. *Hoehnea* 45(2): 173-183, 2018. <https://doi.org/10.1590/2236-8906-65/2017>
- Câmara, I.G. 2003. Brief history of conservation in the Atlantic forest. In: C. Galindo-Leal & G. Câmara (eds.). *The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook*. pp. 31-42. Center for Applied Biodiversity Science e Island Press, Washington. D.C.
- Campbell, G., Mielke, M.S., Rabelo, G.R., Da Cunha, M. (2018). Key anatomical attributes for occurrence of *Psychotria schlechtendaliana* (Müll. Arg.) Müll. Arg.

- (Rubiaceae) in different successional stages of a tropical moist forest. *Flora*. 246, 33–41. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.07.004>
- Castro, A.S.F.; Moro, M.F. & Menezes, M.O.T. 2012. O Complexo Vegetacional da Zona Litorânea Ceará: São Gonçalo Amarante. *Acta Botanica Brasilica* 26: 108-124. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062012000100013>
- Chen Y., Zhang M., Chen T., Zhang Y., An L. (2006) The relationship between seasonal changes in anti-oxidative system and freezing tolerance in the leaves of evergreen woody plants of Sabina. *South African Journal of Botany* 72: 272-279. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2005.09.004>
- Cirne, P., Zaluar, H.L.T., Scarano, F.R., 2003. Plant diversity, interspecific associations, and stfireresprouting on a sandy spit in a brazilian coastal plain. *Ecotropica* 9: 33–38.
- CONAMA, 2012. Resoluções do Conama: Resoluções vigentes publicadas entre setembro de 1984 e janeiro de 2012. Ministério do Meio Ambiente
- Cordazzo, C.V., Paiva, J.B. & Seeliger, U. 2006. Plantas de dunas da costa sudeste atlântica. Pelotas, Useb, 107 p.
- Corrêa, L. M. C., Arrivabene, H. P., & Milanez, C. R. D. (2020). Leaf morpho-anatomical and physiological plasticity of two Vriesea species (Bromeliaceae) in Atlantic Coast restingas (Brazil). *Brazilian Journal of Development*, 6(9), 71706–71727. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n9-568>
- Coyle, J.R., Halliday, F.W., Lopez, B.E., Palmquist, K.A., Wilfahrt, P.A., & Hurlbert, A.H., 2014. Using trait and phylogenetic diversity to evaluate the generality of the stress- dominance hypothesis in eastern North American tree communities. *Ecography* 37, 814-826. <https://doi.org/10.1111/ecog.00473>
- Dau, L. (1960). Microclima das restingas do sudeste do Brasil. *Arquivos do Museu Nacional*. 50: 79-133.
- Dickison, W.C., 2000. Integrative Pant Anatomy. Academic Press, USA.

- Emilio, T., Pereira, H.Jr. and Costa, F.R.C. (2021) Intraspecific Variation on Palm Leaf Traits of Co-occurring Species—Does Local Hydrology Play a Role? *Front. For. Glob. Change* 4:715266. <https://doi.org/10.3389/ffgc.2021.715266>
- Fernandes, A. 2006. *Fitogeografia brasileira: províncias florísticas*. Fortaleza, Realce Editora e Indústria Gráfica.
- Freitas, A. S., Barreto, C. F., Bastos, A. C., Neto, J. A. P., 2017. Paleoenvironmental records influenced by sea level variations during the Holocene in the Vitória bay region, Espírito Santo state, Brazil. *Radiocarbon* 59, 1087–1102. <https://doi.org/10.1017/RDC.2017.46>
- Genty, B., Briantais, J.M., Baker, N.R., 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta* 990, 87–92. [https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9)
- Ghalambor, C.K., McKay, J.K., Carroll, S.P., Reznick, D.N. 2007. Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology* 21: 394– 407. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01283.x>
- Gianoli, E., Palacio-Lopez, K. 2009. Phenotypic integration may constrain phenotypic plasticity in plants. *Oikos* 118: 1924–1928. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17884.x>
- Godoy, O., Valladares, F., Castro-Díez, P., 2012. The relative importance for plant invasiveness of trait means, and their plasticity and integration in a multivariate framework. *New Phytol.* 195, 912–922. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04205.x>
- Grubb, P.J., Marañón, T., Pugnaire, F.I., Sack, L., 2015. Relationships between specific leaf area and leaf composition in succulent and non-succulent species of contrasting semi-desert communities in southeastern Spain. *J. Arid Environ.* 118, 69–83. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2015.03.001>

- Haddad, N.M., Brudvig, L.A., Clobert, J., Davies, K.F., Gonzalez, A., Holt, R.D., Lovejoy, T.E., Sexton, J.O., Austin, M.P., Collins, C.D., Cook, W.M., Damschen, E.I., Ewers, R.M., Foster, B.L., Jenkins, C. N., King, A.J., Laurance, W.F., Levey, D.J., Margules, C.R., Melbourne, B.A., Nicholls, A.O., Orrock, J.L., Song, D.-X. & Townshend, J.R. 2015. Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science Advances*, 1, e1500052. <https://doi.org/10.1126/sciadv.1500052>
- John, G.P., Scoffoni, C., Buckley, T.N., Villar, R., Poorter, H., Sack, L. (2017). The anatomical and compositional basis of leaf mass per area. *Ecol. Lett.* 20, 412–425. <https://doi.org/10.1111/ele.12739>
- Kreyling, J., Puechmaille, S. J., Malyshev, A. V., & Valladares, F. (2019). Phenotypic plasticity closely linked to climate at origin and resulting in increased mortality under warming and frost stress in a common grass. *Ecology and Evolution*, 9(3), 1344-1352. <https://doi.org/10.1002/ece3.4848>
- Magnago, L.F.S., Rocha, M.F., Meyer, L., Martins, S.V. & Meiraneto, J.A.A. 2015. Microclimatic conditions at forest edges have significant impacts on vegetation structure in large Atlantic forest fragments. *Biodiversity and Conservation*, 24, 2305–2318. <https://doi.org/10.1007/s10531-015-0961-1>
- Matesanz, S., Blanco-Sánchez, M., Ramos-Muñoz, M., de la Cruz, M., Benavides, R. and Escudero, A. (2021), Phenotypic integration does not constrain phenotypic plasticity: differential plasticity of traits is associated to their integration across environments. *New Phytol*, 231: 2359-2370. <https://doi.org/10.1111/nph.17536>
- Matesanz, S., Gianoli, E., Valladares, F. 2010. Global change and the evolution of phenotypic plasticity in plants. *Year in evolutionary biology. Annals of the New York Academy of Sciences* 1206: 35–55. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2010.05704.x>
- Melo Jr, J.C.F., Boeger, M.R.T. (2016). Leaf traits and plastic potential of plant species in a light-edaphic gradient from a Restinga in southern Brazil. *Acta biol. Colomb.* 2016;21(1):51-62. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15446/abc.v21n1.47621>

- Melo Jr, J.C.F., Boeger, M.R.T. 2018. Riqueza e estrutura de uma comunidade vegetal de dunas na planície costeira de Santa Catarina. *Iheringia, Série Botânica.*, 73(3), 290–297. <https://doi.org/10.21826/2446-8231201873306>
- Melo Junior, J.C.F., Gonçalves, T.M., Jardim, R.I.L. (2019) Structural adaptations and plastic potential of *Schinus terebinthifolia* Raddi. (Anacardiaceae) in different restinga formations. *Brazilian Journal of Physical Geography* v.12, n.06 (2019) 2218-2238. <https://doi.org/10.26848/rbgf.v12.6.p2218-2238>
- Murray-Smith, C.; Brummitt, N.A.; Filho, A.T.O.; Bachman, S.; Moat, J.; Lughadha, E.M.; Lucas, E.J. 2009. Plant Diversity Hotspots in the Atlantic Coastal Forests of Brazil. *Conservation Biology* p 151-163. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.01075.x>
- Myers, N., Mittermeier, R., Mittermeier, C., Fonseca, G., & J. Kent. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priority. *Nature* 403, 853–858 (2000). <https://doi.org/10.1038/35002501>
- Ormond, W.T. *Ecologia das restingas do Sudeste do Brasil: comunidades vegetais das praias arenosas. Parte I. Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro, v.50, p.185-236, 1960.*
- Pigliucci, M. (2003). Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. *Ecology Letters*, 6(3), 265-272. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00428.x>
- Pireda, S., Oliveira, D.S., Borges, N.L., Ferreira, G.A., Barroso, L.M., Simioni, P., Vitória, A.P., Da Cunha, M., 2019. Acclimatization capacity of leaf traits of species cooccurring in restinga and seasonal semideciduous forest ecosystems. *Environmental and Experimental Botany*. 164: 190–202. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.05.012>
- Poot, P., Lambers, H., 2008. Shallow-soil endemics: adaptive advantages and constraints of a specialized root-system morphology. *New Phytologist* 178: 371–381. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02370.x>

- Rabelo, G. R., Vitória, Â. P., da Silva, M. V., Cruz, R. A., Pinho, E. I., Ribeiro, D. R., Freitas, A. V. & Da Cunha, M. (2013). Structural and ecophysiological adaptations to forest gaps. *Trees*, 27(1), 259-272. <https://doi.org/10.1007/s00468-012-0796-2>
- Rêgo, M.K., Marengo, R.A. & Magalhães, N.S. 2013. Growth and photosynthetic efficiency of nitrogen and phosphorus use in juvenile Amazon forest species. *Tree Magazine*, 37(4).
- Rezende, C.L., Scarano, F.R., Assad, E.D., Joly, C.A., Metzger, J.P., Strassburg, B.B.N., Tabarelli, M., (...), Mittermeier, R.A. (2018). Perspectives in Ecology and Conservation, 16 (4), pp. 208-214. <https://doi.org/10.1016/j.pecon.2018.10.002>
- Ribeiro, M.C., Metzger, J.P., Martensen, A.C., Ponzoni, F., Hirota, M.M., 2009. Brazilian Atlantic forest: how much is left and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation* 142: 1141–1153. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.021>
- Rizzini, C. T. 1997. *Tratado de fitogeografia do Brasil*. Rio de Janeiro: Editora Âmbito Cultural.
- Rollo, T.C., Magenta, M.A.G., Nakasato, M.V., Giordano, F. & Lapo, C.A., 2013. Vegetação de Restinga em Ilha Comprida: Condições de Conservação e Estudo Comparativo. *UNISANTA BioScience* – p. 52 - 65; Vol. 2 nº 1, (2013).
- Sá, C.F.C., 1996. Regeneração em área de floresta de restinga na Reserva Ecológica Estadual de Jacarepiá, Saquarema-RJ: I – Estrato herbáceo. *Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* 34: 177-192.
- Scarano, F.R. Structure, Function and Floristic Relationships of Plant Communities in Stressful Habitats Marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest, *Annals of Botany*, Volume 90, Issue 4, 1 October 2002, Pages 517–524. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf189>
- Scarano, F.R., Ceotto, P. Brazilian Atlantic forest: impact, vulnerability, and adaptation to climate change. *Biodivers Conserv* 24, 2319–2331 (2015). <https://doi.org/10.1007/s10531-015-0972-y>

- Silva, L.C., Freitas-Silva, L., Rocha, D.I. et al. (2020) Leaf Morpho-anatomical Structure Determines Differential Response Among Restinga Species Exposed to Emissions from an Iron Ore Pelletizing Plant. *Water Air Soil Pollut* 231, 152. <https://doi.org/10.1007/s11270-020-04533-x>
- Simioni, P.F., Eisenlohr, P.V., Pessoa, M.J.G., Silva, I.V. (2017) Elucidating adaptive strategies from leaf anatomy: do Amazonian savannas present xeromorphic characteristics? *Flora*, 226, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2016.11.004>
- SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. (2018-2019). Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica.
- SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. (2019-2020). Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica.
- Sultan, S.E., 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* 5: 537-542. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01797-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01797-0)
- Turner, I.M. (1994). Sclerophylly: primarily protective? *Functional Ecology* 8, 669–675.
- Tyree, M., Davis, S. & Cochard, H. (1994) Perspectivas biofísicas da evolução do xilema - há uma troca de eficiência hidráulica para vulnerabilidade à disfunção? *IAWA Journal* 15, 335 – 360.
- Urban, M.C. (2015). Accelerating extinction risk from climate change. *Science*, 348(6234), 571-573. <https://doi.org/10.1126/science.aaa4984>
- Valladares, F., Gianoli, E., Gómez, J.M., 2007. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytologist* 176: 749–763. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02275.x>
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D., Zavala, M.A. 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *J. Ecol.* 94, 1103–1116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01176.x>

- Van Kleunen, M., Fischer, M., 2005. Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist* 166: 49–60. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01296.x>
- Vanzolini, P. E. 1988. Distributional patterns of South American lizards. In: Vanzolini, P. E. e Heyer, W. R. (eds.). *Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns*. pp. 317– 342. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências.
- Vialet-Chabrand, S. R., Matthews, J. S., McAusland, L., Blatt, M. R., Griffiths, H., & Lawson, T. (2017). Temporal dynamics of stomatal behavior: modeling and implications for photosynthesis and water use. *Plant physiology*, 174(2), 603-613. <https://doi.org/10.1104/pp.17.00125>
- Villela, D.M., Silva, A.P., Bonadiman, G.S.L., Souza, A.S., Pires, R.S. (2020) *Clusia hilariana*, a key species on nutrient cycling in sand dune vegetation thickets. *O ecol. Aust.* 24(2):420–437. <https://doi.org/10.4257/oeco.2020.2402.13>
- Vogelmann, T.C., Bornman, J.F., Yates, D.M., 1996. Focusing of light by leaf epidermal cells. *Physiology Plant* 98: 43–56.
- Wright, I., Reich, P., Westoby, M. et al. (2004) The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* 428, 821–827. <https://doi.org/10.1038/nature02403>
- Zhou, S., Duursma, R.A., Medlyn, B.E., Kelly, J.W., Prentice, I.C., 2013. How should we model plant responses to drought? An analysis of stomatal and non-stomatal responses to water stress. *Agric. For. Meteorol.* 182, 204–214. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2013.05.009>
- Zimmermann, T. G., Andrade, A. C., & Richardson, D. M. (2016). Experimental assessment of factors mediating the naturalization of a globally invasive tree on sandy coastal plains: a case study from Brazil. *AoB Plants*, 8, plw042. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw042>

9. Anexo: Comprovante de Submissão do Artigo 1

Trees

Effects of microclimatic variation on plant leaf traits at the community level along a tropical forest gradient --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	TSAF-D-23-00039
Full Title:	Effects of microclimatic variation on plant leaf traits at the community level along a tropical forest gradient
Article Type:	Original Article
Keywords:	sandbanks; environmental variations; morphoanatomical; adaptive capacity
Corresponding Author:	Maura Da Cunha Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro BRAZIL
Corresponding Author Secondary Information:	
Corresponding Author's Institution:	Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro
Corresponding Author's Secondary Institution:	
First Author:	Dhiego da Silva Oliveira
First Author Secondary Information:	
Order of Authors:	Dhiego da Silva Oliveira Priscila Fernanda Simioni Igor Araújo Saulo Pireda Marcos José Gomes Pessoa Rodrigo Barbosa Braga Feitoza Gabriel Silva Oliveira Gabriel Silva Amaral Maura Da Cunha
Order of Authors Secondary Information:	
Funding Information:	
Abstract:	It is challenging connections between leaf functional characteristics and environmental changes, especially in systems with high biodiversity, such as the Atlantic Forest that is considered vulnerable to climate change. This study characterizes the leaf morphoanatomy of twelve species that occur in different vegetation types (sandbanks forest formation, Clusia formation, beach grass and shrub formation, and beach grass formation) in sandbanks ecosystem in the Atlantic Forest. We did this to understand how leaf attributes adjust to the microclimatic variation in each vegetation type. Five individuals of each species in the vegetation types were collected. Subsequently, plant anatomy methods, including light and scanning electron microscopy, were used to make observations. Our findings showed a similarity between the vegetational types of sandbanks forest, Clusia formation, beach glass and shrub formation that may be related to the short distance between plant communities and/or being exposed to similar microclimatic conditions. Characteristics, such as epidermal cells with straight walls, hirsutomatic leaves, and thick and striated cuticles, helped species colonize