

ATRIBUTOS FUNCIONAIS DA FOLHA E DO LENHO DE ESPÉCIES
VEGETAIS CO-OCORRENTES EM ECOSSISTEMAS DE RESTINGA E
FLORESTA ESTACIONAL SEMIDECIDUAL

SAULO PIREDA FERNANDES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO
CAMPOS DOS GOYTACAZES

2019

ATRIBUTOS FUNCIONAIS DA FOLHA E DO LENHO DE ESPÉCIES
VEGETAIS CO-OCORRENTES EM ECOSISTEMAS DE RESTINGA E
FLORESTA ESTACIONAL SEMIDECIDUAL

SAULO PIREDA FERNANDES

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia, área de concentração em Biologia Celular 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

Campos dos Goytacazes – RJ

Fevereiro de 2019

FICHA CATALOGRÁFICA

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

F363

Fernandes, Saulo Pireda.

ATRIBUTOS FUNCIONAIS DA FOLHA E DO LENHO DE ESPÉCIES VEGETAIS CO-OCORRENTES EM ECOSISTEMAS DE RESTINGA E FLORESTA ESTACIONAL SEMIDECIDUAL. / Saulo Pireda Fernandes. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2019.

135 f. : il.

Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Biociências e Biotecnologia) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Biociências e Biotecnologia, 2019.

Orientadora: Maura da Cunha.

Coorientador: Eliemar Campostrini.

1. Morfoanatomia. 2. Ecofisiologia. 3. Anatomia do Lenho. 4. Plasticidade Fenotípica. 5. Mata Atlântica. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 570

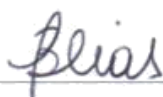
ATRIBUTOS FUNCIONAIS DA FOLHA E DO LENHO DE ESPÉCIES VEGETAIS
CO-OCORRENTES EM ECOSISTEMAS DE RESTINGA E FLORESTA
ESTACIONAL SEMIDECIDUAL

SAULO PIREDA FERNANDES

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia, área de concentração em Biologia Celular da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Biociências e Biotecnologia.

Aprovado em 22 de fevereiro de 2019.

Comissão Examinadora



Dra. Germana Bueno Dias (UFRR)



Dra. Claudete Santa-Catarina (UENF)



Dr. Fábio Lopes Olivares (UENF)



Dra. Maura Da Cunha (UENF)
(Orientadora)

Campos dos Goytacazes – RJ

Fevereiro - 2019

O presente trabalho foi desenvolvido no setor de Biologia Vegetal do Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, pertencente ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, sob orientação da Dra. Maura Da Cunha, com financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Financiamento 001, Fundação 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 pelo CNPq.

Dedico esta obra *in memoriam*
da Msc. Maria Isabel Titonelli
Pacheco e do Dr. Flávio Costa
Miguens.

Esta frase soa como um clichê, mas traduz bem esse trabalho:

“Não é o mais forte que sobrevive, nem o mais inteligente, mais o que melhor se adapta às mudanças.”

Charles Robert Darwin

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, por ser minha segurança em momentos de dificuldade, por me conceder toda clareza, compreensão e paciência para saber contornar os problemas que surgiram durante a realização deste trabalho.

A minha orientadora Dra. Maura Da Cunha, na qual eu atribuo o título de “mãe científica”, pois seus ensinamentos além de contribuir para minha formação profissional, também contribuí para o meu engrandecimento pessoal. Obrigado por depositar toda sua confiança em mim para a realização deste trabalho.

Aos membros, ex-membros, e agregados do grupo da professora Maura: Marcos José, Priscila Simioni, Vanessa Xavier, Leticia Lannes, Renata Pegoral, Camilla Ribeiro, Neilor Borges, Gabriel Amaral, Dhiego Oliveira, Glaziele Campbell, João Victor Castellar, Kathlyn Gevú, Rodrigo Barbosa, Warlen Costa, Guilherme Rabelo, Cristiane Tulli, Jonas de Brito, Nycolle Bautz, Lara Ribeiro, Fernanda Trindade, Gabriel Taveira, Erica Melo, Gilmar Maiolino. Se esqueci alguém peço desculpas.

A Dra. Leticia Rocha pela criteriosa revisão deste trabalho, e pelas infundáveis conversas e momentos de descontração.

A Dra. Ângela Pierre, por estar sempre disposta a ajudar na realização de análises e interpretação de resultados.

Aos membros da banca Dra. Germana Bueno Dias, Dra. Claudete Santa-Catarina e Dr. Fábio Olivares.

Aos eternos amigos, que mesmo distante, torceram e contribuíram para realização desse trabalho: Dr. Emilio Miguel, sua esposa Dra. Thaiz Miguel e seu filho Antônio; Dr. Umberto Zottich e sua esposa Dra. Germana Bueno e sua filha Alicinha.

Aos amigos de república e fieis companheiros: Neilor Borges, Gabriel Amaral e Dhiego Oliveira e Luis Mazorra.

Aos técnicos e funcionários do LBCT Beatriz, Giovanna, Márcia Adriana, Arthur, Adrianinha e Luciana.

Aos professores Fabio Olivares, Renato Da Mata, Clovis de Paula, Edésio Tenório, Arnaldo Façanha, Claudete Santa-Catarina, Valdirene Moreira, Claudia Barros, Cátia Callado e Helena Pinto, por todo conhecimento transferido ao longo dessa caminhada.

A chefia do LBCT, na figura do Dr. Renato Da Matta, por proporcionarem as condições necessárias para o desenvolvimento desta tese.

Ao coordenador do Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia Dr. Arnaldo Rocha Façanha, e as funcionárias Beatriz e Marlene.

Aos meus pais, Edimar Fernandes e Maria Barbosa Pireda Fernandes, por me ensinar o verdadeiro valor da vida, e por sempre ser meu suporte, as vezes financeiro, para que eu pudesse chegar até aqui.

Por fim, a pessoas que tem estado ao meu lado em grande parte dessa jornada, minha namorada Samara Schimith, meu amparo nos momentos de dificuldades, minha companheira, que sempre tinha uma palavra de motivação que me reanimava nos momentos de fraqueza. Muito obrigado por tudo que você fez e ainda continua fazendo em minha vida.

LISTA DE FIGURAS

Introdução

Figura 1.	Mapa da distribuição das fitofisionomias da Mata Atlântica	22
Figura 2.	Mapa de distribuição dos principais remanescentes da Mata Atlântica para o estado do Rio de Janeiro	23
Figura 3.	Esquema da distribuição das fitofisionomias das restingas do Norte Fluminense proposto por Assumpção & Nascimento (2000)	25
Figura 4.	Características gerais do Complexo Lagunar de Grussaí/Iquipari (CLGI)	27
Figura 5.	Características gerais da Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba (EEEG)	30
Figura 6.	Imagem de satélite mostrando a proximidade (± 40 km) entre a Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba (EEEG) e o Complexo Lagunar de Grussaí/Iquipari (CLGI)	30
Figura 7.	Esquema demonstrando os processos de regressão e transgressão do mar	31

Capítulo 1

Figure 1.	Leaf venation pattern of <i>M. obtusifolia</i> , <i>M. subsericea</i> and <i>I. laurina</i> in restinga and forest.....	50
Figure 2.	Deposition of epicuticular wax on the leaves of <i>M. obtusifolia</i> , <i>M. subsericea</i> and <i>I. laurina</i> in restinga and forest, observed under scanning electron microscopy	51
Figure 3.	Box plots represent the median values of the analyses performed at 8h and 12h in the two study areas, with the aim of evaluating the daily photosynthetic performance of the three studied species	53
Figure 4.	Linear regression between $\delta^{13}C$ (‰) and $\delta^{15}N$ (‰). (A); $\delta^{13}C$ (‰) and A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (B), for the species <i>M. obtusifolia</i> (squares), <i>M. subsericea</i> (triangles) and <i>I. laurina</i> (diamonds) in restinga (white symbols) and forest (black symbols)	56
Figure 5.	Linear regression between the relative distance plasticity index (RDPI) and phenotypic integration (IF) between functionally correlated characteristics for the species <i>M. obtusifolia</i> (A – squares), <i>M. subsericea</i> (B – triangles) and <i>I. laurina</i> (C – diamonds).....	59
Figure 6.	Principal components analysis (PCA) for the species <i>M. obtusifolia</i> , <i>M. subsericea</i> and <i>I. laurina</i> , in restinga and forest.....	60

Data in Brief

Figure 1.	Leaf anatomical characterization of <i>Maytenus obtusifolia</i> , <i>Manilkara subsericea</i> and <i>Inga laurina</i> observed in light microscopy.....	77
Figure 2.	Mean values (\pm standard deviation) from the gas exchange analyses performed during the day (8h and 12h) for the species <i>M. obtusifolia</i> , <i>M. subsericea</i> and <i>I. laurina</i> in restinga and forest.....	79
Figure 3.	Characterization of the study areas and the three species.....	83
Capítulo 2		
Figura 1.	Valores médios (\pm desvio padrão) mensais das análises microclimáticas na área de restinga e floresta, entre os anos de 2015 e 2018.....	94
Figura 2.	Anatomia do lenho de <i>Maytenus obtusifolia</i> na restinga e floresta.....	100
Figura 3.	Anatomia do lenho de <i>Manilkara subsericea</i> na restinga e floresta.....	102
Figura 4.	Anatomia do lenho de <i>Inga laurina</i> na restinga e floresta.....	104
Figura 5.	Regressão linear entre o índice de plasticidade das distâncias relativas (RDPI) e a integração fenotípica (IF) para as espécies <i>M. obtusifolia</i> , <i>M. subsericea</i> e <i>I. laurina</i>	109
Figura S1	Caracterização da área de estudo.....	121
Figura S2	Espécies estudadas.....	122

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Table 1.	Microclimatic and edaphic characteristics of restinga and forest systems.....	42
Table 2.	Mean values (\pm standard deviation) of morphoanatomical traits of the species <i>M. obtusifolia</i> , <i>M. subsericea</i> and <i>I. laurina</i> in restinga and forest.....	48
Table 3.	Comparison of Pearson correlations, between mean values of LSM and various leaf traits (thickness of leaf, palisade, spongy and adaxial and abaxial cuticle; N, P, content and C/N ration), between restinga and forest.....	49
Table 4.	Comparison between restinga and forest for Pearson correlations between mean values of stomatal density and area and physiological traits (<i>A</i> , <i>E</i> and <i>g_s</i>).	54
Table 5.	Mean values (\pm standard deviation) for the traits: <i>YII</i> and <i>F_v/F_m</i> (chlorophyll <i>a</i> fluorescence); chlorophyll <i>a</i> and <i>b</i> , carotenoids, and the ratios chlorophyll <i>a/b</i> and chlorophyll/carotenoids (photosynthetic pigments); $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ (isotopic composition); carbohydrates, proline, phenols and flavonoids (biochemistry) of the leaves of the species <i>M. obtusifolia</i> , <i>M. subsericea</i> and <i>I. laurina</i> in restinga and forest	55
Table 6.	Relative distance plasticity index (RDPI) for morphological, anatomical, ecophysiological, biochemical and nutritional traits of the species <i>M. obtusifolia</i> , <i>M. subsericea</i> and <i>I. laurina</i> in response to environmental variation between the restinga and forest.....	58
Table 7.	Percentage of phenotypic integration (%IF) for morphological, anatomical, ecophysiological, biochemical, and nutritional traits of the species <i>M. obtusifolia</i> , <i>M. subsericea</i> and <i>I. laurina</i> in response to environmental variation between the restinga and forest.....	59

Data in Brief

Table 1.	Mean values (\pm standard deviation) for the analysis of the chlorophyll fluorescence emission performed during the day (8h and 12h) for the species <i>M. obtusifolia</i> , <i>M. subsericea</i> and <i>I. laurina</i> in restinga and forest. Different letters indicate significant differences to ecosystems	80
Table 2.	Leaf nutritional analysis of <i>M. obtusifolia</i> , <i>M. subsericea</i> and <i>I. laurina</i> in restinga and forest ecosystems	81
Table 3.	Nutritional and physical characteristics of the soil of the restinga and forest. SB – sum of bases; T – potential cation exchange capacity; t – effective cation exchange capacity; m – aluminum saturation percent; V – bases saturation percent at pH 7.0	82

Capítulo 2

Tabela 1.	Característica nutricionais e físico-química do solo entre as áreas de restinga e floresta.....	95
Tabela 2.	Valores médios (\pm desvio padrão) dos atributos funcionais do lenho das espécies <i>M. obtusifolia</i> , <i>M. subsericea</i> e <i>I. laurina</i> entre os ecossistemas de restinga e floresta	106
Tabela 3.	Correlação de Pearson entre <i>Kh</i> e as características funcionais dos elementos de vaso (frequência, comprimento, diâmetro tangencial e radial, lúmen, e espessura da parede), e entre os índices de vulnerabilidade e mesomorfia	107
Tabela 4.	Índice de plasticidade de distâncias relativas (RDPI) para os atributos funcionais do lenho das espécies <i>M. obtusifolia</i> , <i>M. subsericea</i> e <i>I. laurina</i> em respostas as variações ambientais entre os ecossistemas de restinga e floresta	108
Tabela 5.	Percentual de Integração Fenotípica (%IF) para os atributos funcionais do lenho das espécies <i>M. obtusifolia</i> , <i>M. subsericea</i> e <i>I. laurina</i> em respostas as variações ambientais entre os ecossistemas de Restinga e Floresta	109
Tabela S1.	Valores médios do diâmetro altura do peito (DAP), altura dos indivíduos, e forma de vida das espécies estudadas	123

RESUMO

Restingas são planícies arenosas Holocênicas, formadas à aproximadamente 7.000 anos, a partir de processos de regressão marinha. Esse efeito geológico deixou desnuda uma grande faixa de área, que posteriormente foi colonizada por plantas oriundas de ecossistemas vizinhos, como as Florestas Estacionais Semidecidual (FES). Para que tais plantas se adaptassem às condições da restinga, estas tiveram que ajustar seus atributos morfoanatômicos e fisiológicos para garantir sucesso no processo de consolidação da vegetação de restinga. Assim, o presente trabalho visa identificar os principais atributos funcionais da folha e do lenho que tornaram as espécies aptas a co-ocorrer na FES e restinga. Para isso, foram selecionadas três espécies (*Maytenus obtusifolia*, *Manilkara subsericea*, *Inga laurina*), baseado principalmente na sua co-ocorrência nas duas áreas. Foram realizadas análises ao microscópio óptico e eletrônico de varredura, a fim de observar as características morfoanatômicas das espécies selecionadas. Análises do rendimento quântico do PSII, e de trocas gasosas foram realizadas para avaliar o desempenho fotossintético das espécies. A eficiência do uso da água foi realizada através da composição isotópica de ^{13}C e ^{15}N . Por fim, foram realizadas análises para detectar a concentração de carboidrato, prolina, fenóis totais e flavonoides. As espécies nas restingas apresentaram folhas mais espessas, suculentas e com menor área foliar, refletindo estratégias adaptativas as condições de altas irradiâncias e de déficit hídrico da restinga. As análises fisiológicas demonstraram que a espécie *I. laurina* foi a única a apresentar comprometimento na assimilação de CO_2 , e demonstrou sinais de fotoinibição do PSII na restinga. A composição isotópica de ^{13}C foi maior na restinga, e o de ^{15}N na floresta. O conteúdo de carboidratos e de prolina foram maiores na restinga, o que também são respostas a condição de déficit hídrico das restingas. A anatomia do lenho demonstrou que as espécies na restinga apresentaram uma maior quantidade de vasos (mm^2), com área e diâmetro do lúmen menor, explicando os menores valores de vulnerabilidade e mesomorfia na restinga. Em contrapartida, as espécies na floresta investiram em vasos maiores, favorecendo uma maior condutividade hidráulica potencial (Kp). Os resultados demonstraram que as espécies tiveram que ajustar inúmeros atributos funcionais da folha e do lenho, para suportar principalmente as condições de altas irradiâncias e baixa disponibilidade hídrica da restinga.

Palavras-chaves: Morfoanatomia, Ecofisiologia, Anatomia do lenho, Plasticidade fenotípica, Mata Atlântica.

ABSTRACT

Restingas are sandy plains originated in the Holocene epoch, approximately 7,000 years ago, from marine regression processes. This geological effect bared a large sandy strip area, which was later colonized by plant species from neighboring ecosystems, such as the Semideciduous Seasonal Forests (SSF). For such species to adapt to restinga conditions, adjustments of their morphological and physiological traits had to be developed in order to insure success to the consolidation process of the restinga vegetation. Therefore, the present work aims to identify the main functional leaf and wood traits which led some species being able to co-occur both in SSF and in restinga. For this, three species (*Maytenus obtusifolia*, *Manilkara subsericea*, *Inga laurina*) were selected, based mainly on their co-occurrence in both areas. Light and scanning electron microscopy analyzes were performed to observe the morphoanatomical characteristics of the selected species. Analyzes of the quantum yield of PSII and gas exchange were performed to evaluate the photosynthetic performance of these species. The water use efficiency was performed through the ^{13}C and ^{15}N isotopic composition. Lastly, analyzes were performed to detect the concentration of carbohydrate, proline, total phenols and flavonoids. Species in restinga presented thicker, succulent and smaller leaf area, which reflect adaptive strategies to the conditions of high irradiance and water deficit commonly found in restinga environments. Physiological analyzes showed that *I. laurina* species was the only one to present a CO_2 assimilation jeopardized as well as signs of photoinhibition of PSII in the restinga. The ^{13}C isotopic composition was higher in the restinga, whereas the ^{15}N composition was higher in the forest. Carbohydrate and proline contents were higher in the restinga, which are also responses to the water deficit condition presented at this environment. The wood anatomical characteristics showed that the species in the restinga had a larger number of vessels (mm^2), with smaller area and diameter of the lumen, which explains the lower values for vulnerability and mesomorphy index in the restinga. Contrary to the results found in the restinga, the species in the forest invested in larger vessels, thus, favoring a higher potential hydraulic conductivity (K_p). The findings in this work showed that the species had to adjust numerous functional leaf and wood traits to tolerate mostly the conditions of high irradiance and low water availability of the restinga.

Keywords: Morphoanatomy, Ecophysiology, Wood anatomy, Phenotypic plasticity, Atlantic Forest.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO GERAL	18
2.	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	21
2.1	Mata Atlântica	21
2.2	Restinga	24
2.3	Complexo Lagunar de Grussaí/Iquipari	26
2.4	RPPN Fazenda Caruara	27
2.5	Floresta Estacional Semidecidual	28
2.6	Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba – Mata de Tabuleiro	29
2.7	Formação da vegetação de restinga	31
2.8	Plasticidade fenotípica X Integração fenotípica	32
2.9	Ajustes estruturais e fisiológicos das plantas em respostas as condições ambientais	33
3.	OBJETIVOS	35
3.1	Objetivo Geral	35
3.2	Objetivos Específicos	35
4.	ACCLIMATIZATION CAPACITY OF LEAF TRAITS OF SPECIES CO-OCCURRING IN RESTINGA AND SEASONAL SEMIDECIDUOUS FOREST ECOSYSTEMS	38
4.1	Abstract	39
4.2	Introduction	40
4.3	Materials and Methods	41
4.3.1	<i>Study area, selected species and period of analysis</i>	41
4.3.2	<i>Measurement of leaf morphological parameters</i>	43
4.3.3	<i>Measurement of leaf anatomical characteristics</i>	43
4.3.4	<i>Light microscopy</i>	44
4.3.5	<i>Scanning electron microscopy</i>	44
4.3.6	<i>Gas exchange</i>	44
4.3.7	<i>Chlorophyll a fluorescence</i>	44
4.3.8	<i>Photosynthetic pigments</i>	45

4.3.9	<i>Biochemical analyses</i>	45
4.3.10	<i>Isotopic concentration of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$</i>	45
4.3.11	<i>Leaf nutritional analysis</i>	46
4.3.12	<i>Relative distance plasticity index and phenotypic integration</i>	46
4.3.13	<i>Statistic analysis</i>	47
4.4	Results	47
4.4.1	<i>Leaf morpho-anatomical attributes</i>	47
4.4.2	<i>Gas exchange</i>	52
4.4.3	<i>Chlorophyll a fluorescence and photosynthetic pigment</i>	54
4.4.4	<i>Isotopic analysis of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$</i>	56
4.4.5	<i>Biochemical analyses</i>	56
4.4.6	<i>Phenotypic plasticity and PCA</i>	57
4.5	Discussion	60
4.6	Conclusion	66
4.7	Reference	67
4.8	Data in Brief	73
5.	CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E IDENTIFICAÇÃO DE ATRIBUTOS FUNCIONAIS DO LENHO QUE CAPACITARAM ESPÉCIES DE PLANTAS CO-OCORREM EM ECOSISTEMAS DE RESTINGA E FLORESTA ESTACIONAL SEMIDECIDUAL. 88	
5.1	Resumo	89
5.2	Abstract	90
5.3	Introdução	91
5.4	Material e Métodos	93
5.4.1	<i>Área de estudo</i>	93
5.4.2	<i>Seleção das espécies</i>	95
5.4.3	<i>Processamento do lenho</i>	96
5.4.4	<i>Condutividade hidráulica teórica e índices de vulnerabilidade e mesomorfia</i>	97
5.4.5	<i>Índice de plasticidade das distâncias relativas e Integração fenotípica</i>	97
5.4.6	<i>Análise estatística</i>	98

5.5	Resultados	99
5.5.1	<i>Caracterização anatômica</i>	99
5.5.2	<i>Atributos funcionais do lenho</i>	105
5.5.3	<i>Condutividade hidráulica das plantas</i>	107
5.5.4	<i>Análises de plasticidade e integração fenotípica dos atributos funcionais do lenho</i>	108
5.6	Discussão	110
5.7	Conclusão	114
5.8	Referências	115
5.9	Material Suplementar	121
6.	Considerações finais	124
7.	Referências Bibliográficas	126

1. INTRODUÇÃO GERAL

As restingas são planícies arenosas Holocênicas formadas há aproximadamente 7.000 anos, resultado de processos geológicos de regressão marítima, que teriam deixaram grandes faixas de áreas desnudas (Suguio & Tessler 1984; Freitas et al. 2017). Essas faixas de areia foram, posteriormente, colonizadas por plantas oriundas de diferentes fitofisionomias da Mata Atlântica, como a Floresta Estacional Semidecidual (FES) (Freire 1990; Scarano 2002). A influência de outras fitofisionomias atuando na composição da vegetação de restinga foi proposta por Lamego (1946) no livro “*O homem e a Restinga*” e, posteriormente, esta foi reiterada por Araújo (2000) em seu trabalho “*Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras*”.

A compreensão da consolidação da vegetação de restinga se torna importante visto o valor ecossistêmico desse tipo de vegetação. Além disso, as formações vegetacionais deste ecossistema ajudam na estabilização das áreas costeiras, atuando principalmente na compactação do solo de áreas próximas as linhas de marés altas, minimizando os efeitos erosivos (Cirne et al. 2003). Além de promover a proteção e estabilização do substrato arenoso contra a ação dos ventos (Assumpção & Nascimento 2000).

Além disso, as restingas são ecossistemas com características peculiares que as distinguem das demais fitofisionomias constituintes da Mata Atlântica (Falkenberg 1999). Esta singularidade a torna um ecossistema com alto grau de endemismo, tanto de espécies vegetais, quanto animais (Araújo 1997). Além deste fator, a restinga é o refúgio de inúmeras espécies ameaçadas de extinção (Carvalho & Sá 2011), como o caso do lagarto *Liolaemus lutzae* (Rocha et al. 2005); dos pássaros *Formicivora littoralis*, *Mimus gilvus*, e *Schistochlamys melanopi* (Alves et al. 2000), e das plantas *Ampelocera glabra*, *Celtis spinosa*, *Ficus cyclophylla*, *Ficus nevesiae*, *Maclura brasiliensis* e *Phyllostylon brasiliense* (Pederneiras et al. 2014).

A importância inquestionável das restingas, tanto para a manutenção do equilíbrio das zonas costeiras como mantenedora de biodiversidade, não impediu que as áreas de restinga fossem drasticamente reduzidas. Adotando uma visão reducionista, apenas para as restingas do estado do Rio de Janeiro, passaram a apresentar após o período pré-colonial uma área de aproximadamente 430 km², quando a área original era de aproximadamente 1.200 km², (SOS Mata Atlântica – INPE 2019). Para que estas áreas não sejam continuamente reduzidas, é necessário que a comunidade científica se conscientize da importância dos ecossistemas de restingas, e passem a atuar ativamente

no levantamento de informações que possam contribuir para as estratégias de conservação dos poucos remanescentes de restinga ainda existentes.

Nesse sentido, a compreensão de mecanismos de estruturação e formação da vegetação de restinga é sem dúvida uma boa forma de obter informações relevantes a respeito da dinâmica ecológica e de funcionamento desse ecossistema. Sendo assim, é importante entender como as espécies oriundas de outras fitofisionomias da Mata Atlântica (neste caso aqui, Floresta Estacional Semidecidual) se adaptaram as condições ambientais severas das restingas.

Vale ressaltar algumas diferenças ambientais entre a FES e as restingas, afim de dimensionar o quão contrastantes são esses ecossistemas, e o quão necessário teria sido os ajustes em diferentes níveis organizacionais das espécies colonizadoras. As formações florestais são caracterizadas por apresentar um dossel bem consolidado, influenciando diretamente na quantidade e qualidade espectral da luz (Chazdon & Percy 1991; Tang & Dubayah 2017). Além de propiciar condições de temperatura menores e umidade mais elevada quando em comparação com as restingas (Mau et al. 2018). Ademais, a presença de serapilheiras nas florestas contribui para aumentar a disponibilidade de nutrientes e a umidade do solo (Sloboda et al. 2017). As restingas, por sua vez, apresentam um gradiente vegetacional crescente a medida em que se afasta do mar (Araujo & Oliveira 1988; Falkenberg 1999). Apesar de existirem áreas com formação arbórea consolidando um dossel tênue, a maior parte desse ecossistema é constituído por moitas espaçadas que não constituem um dossel (Assumpção & Nascimento 2000). Sendo assim, as condições de irradiâncias e temperatura tendem a serem mais altas, e de umidade mais baixa. Além disso, o solo das restingas é arenoso, o que diminui a capacidade de reter água e nutrientes (Andrade 1967; Hay et al. 1981).

A capacidade das plantas em co-ocorrem em ambientes com condições microclimáticas e edáficas tão contrastantes está diretamente relacionada ao potencial que essas espécies têm de ajustar suas características fenotípicas em respostas às variações ambientais. Segundo Sultan (2000), a capacidade das plantas em alterar seu fenótipo em virtude de mudanças ambientais é definida como plasticidade fenotípica. Pigliucci et al. (2006) destacam que a plasticidade fenotípica está diretamente relacionada a capacidade do genótipo de reconhecer e expressar novas características fenotípicas. Nesse sentido, plantas que apresentam uma maior plasticidade fenotípica são mais aptas a co-ocorrem em diversos ambientes.

Sendo assim, as condições contrastantes de altas irradiâncias e baixa disponibilidade hídrica entre a FES e a restinga pode ter induzido inúmeras alterações fenotípicas nas espécies. As plantas em condições de altas irradiância e de baixa disponibilidade hídrica tendem a apresentar folhas mais espessas e suculentas, a fim de favorecer o armazenamento de água (Rabelo et al. 2013), e distribuir mais igualmente a luz pelo mesófilo foliar (Volgemann et al. 1996). As plantas em condições de déficit hídrico podem apresentar inúmeras alterações para favorecer o transporte lateral de água, e evitar a captação e o embolismo, tais como: maior frequência de vasos por mm^2 , vasos de menor calibre, maior quantidade de células parenquimáticas, e fibras mais espessas (Campbell et al. 2018). Além disso, o desempenho fotossintético dessas plantas pode ser comprometido, uma vez as plantas em condições de seca optam por comprometer a assimilação de CO_2 em função de evitar a perda de água (Flexas et al. 2012; Vitória et al. 2016). Assim como, podem apresentar alterações nos complexos de captação de luz do fotossistema II (PSII), comprometendo o desempenho fotoquímico dessas plantas (Maxwell & Johnson 2000).

Neste sentido, para que as espécies de FES colonizem e se perpetuem nas áreas de restinga, foi necessário um ajuste e/ou integração de vários atributos funcionais. Sendo assim, uma compreensão prévia e detalhada desses atributos funcionais pode aumentar a probabilidade de sucesso em ações de restauração ecológicas, e no reestabelecimento de processos ecológicos e edáficos, a fim de se obter uma provisão adequada dos serviços ecossistêmicos.

Baseado nessa premissa, o presente trabalho busca identificar os principais atributos funcionais (morfológicos, anatômicos e fisiológicos), que permitiram com que espécies de FES colonizassem e consolidassem as formações vegetacionais das restingas. A partir dessa proposta foram levantados quatro questionamentos que norteiam esse trabalho: (1) Quais foram os principais ajustes morfoanatômicos e fisiológicos da folha e do lenho, que possibilitaram a adaptação das espécies de FES na restinga? (2) As espécies na restinga apresentam atributos funcionais do lenho que favorecem uma maior segurança hidráulica? (3) As respostas adaptativas são espécies-específicas ou há um padrão de respostas comum as espécies direcionadas pelo ambiente? (4) Quais variáveis ambientais (irradiância, temperatura, umidade, escassez hídrica e nutricional) mais pressionam ajustes aclimatativos das espécies?

A partir desse estudo espera-se obter resultados que possam contribuir para o entendimento dos processos de consolidação da vegetação de restinga, assim como para

a predição de alterações na comunidade em função de mudanças climáticas. Ademais, a partir dos conhecimentos relacionados à formação das restingas, é possível obter informações relevantes para a reestruturação, conservação e manutenção dos serviços desse ecossistema.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Mata Atlântica

A Mata Atlântica vem sofrendo um contínuo processo de fragmentação e de desmatamento, que se iniciou com as constantes expedições portuguesas enviadas ao litoral brasileiro entre 1.500 e 1.530 (SOS Mata Atlântica 2019). Antes de se iniciar os processos de exploração, a Mata Atlântica era uma das maiores florestas tropicais das Américas, e ocupava grande parte do litoral brasileiro, estendendo-se do Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul (Murray-Smith et al. 2009). No entanto, devido aos contínuos processos de desmatamento sua área original de 1.315.460 km² foi drasticamente reduzida (SOS Mata Atlântica 2019). Atualmente resta apenas cerca 12,5% (16,377,472 ha) de sua vegetação original, os outros 87,5% foram desmatados para dar lugar a culturas de cana-de-açúcar, cacau, café e banana, assim como a agricultura de subsistência e especulação imobiliária (Quinet et al. 2000; Morellato 2000, Scarano & Ceotto 2015).

Devido a sua grande extensão, a Mata Atlântica apresenta amplas variações latitudinais e longitudinais, que pode influenciar tanto nos tipos de clima tropical e subtropical, quanto nos regimes pluviométricos (Galindo-Leal & Câmara 2003; Ribeiro et al. 2009). Essas características geográficas, assim como fatores altitudinais, explicam o fato da Mata Atlântica não ser uma formação vegetacional homogênea, e sim composta por uma série de ecossistemas tais como: Florestas Ombrófilas Densa, Ombrófilas Mista (Mata de Araucária), Estacional Semidecidual e Estacional Decidual, além de ecossistemas associados como manguezais, restingas, campos de altitudes (Joly et al. 1991). Como pode ser observado na Figura 1.

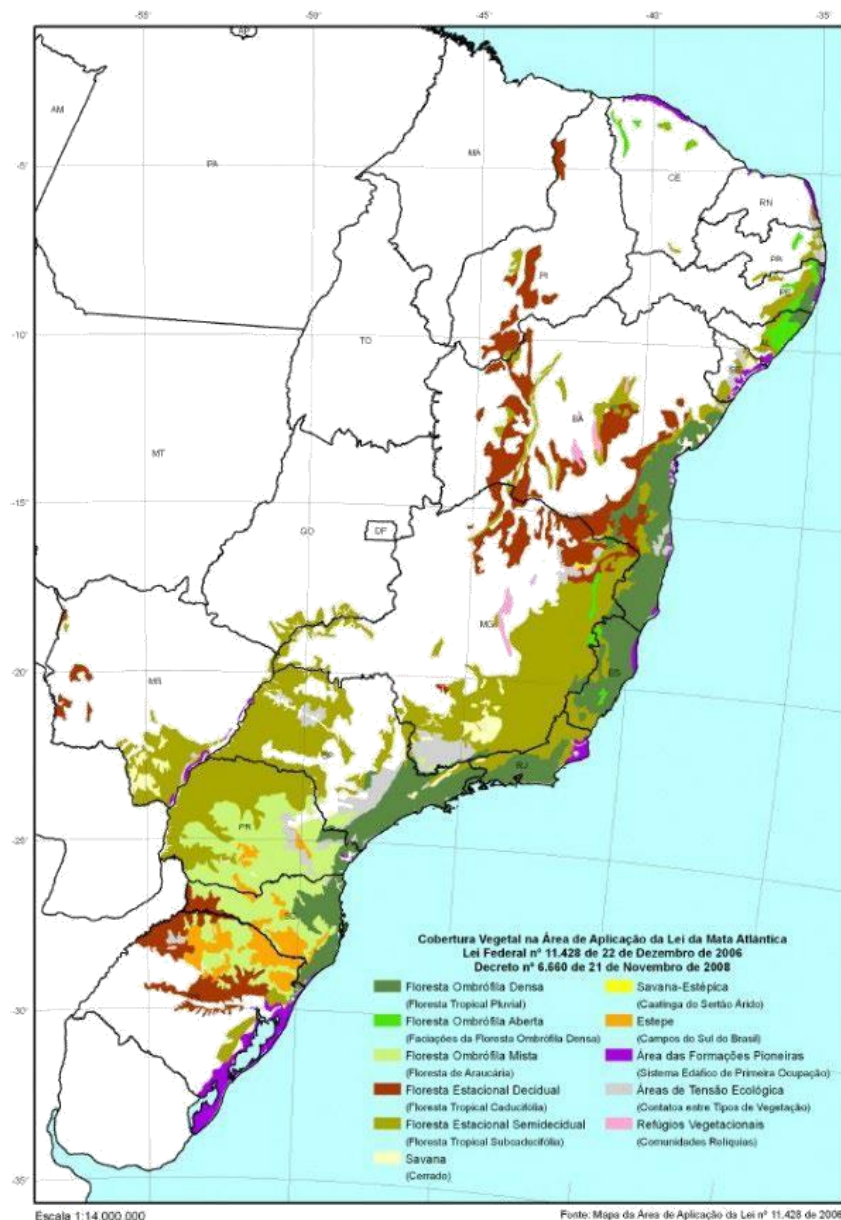


Figura 1. Mapa da distribuição das fitofisionomias da Mata Atlântica. (SOS Mata Atlântica 2019).

Estas características de heterogeneidade da Mata Atlântica são fatores facilitadores de altos índices de biodiversidade e endemismo (Ribeiro et al. 2009). No entanto, esta grande biodiversidade de espécies encontra-se ameaçada devido aos constantes desmatamentos. Neste sentido, a Mata Atlântica está entre um dos 34 “hotspots” mundiais, e incluso com um dos quatro em termos de prioridade de conservação (Myers et al. 2000; Eisenlohr et al. 2015).

A Fundação SOS Mata Atlântica, juntamente com o Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais, publicou em 2016 o “Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica”, onde foi demonstrado que o desmatamento da Mata Atlântica entre 2014 e

2015 foi de aproximadamente 18.433 hectares (ha), ou 184 Km², sendo os estados de Minas Gerais (7.702 ha), Bahia (3.997 ha) e Piauí (2.926 ha) os que apresentaram os maiores níveis de desmatamento.

O estado do Rio de Janeiro em particular, apresenta atualmente 30,7% (cerca de 1,3 milhão de hectares) de sua Mata Atlântica original, sendo 10% (435.540 ha) de vegetação natural, 18,6% (814.563 ha) de remanescentes florestais, 0,3% (11.895 ha) de mangues, e 1,2% (52.299 ha) de restingas, os outros 0,6% (26.549 ha) correspondem a áreas naturais não florestais (Fundação SOS Mata Atlântica 2019). Segue o mapa de distribuição dos principais remanescentes da Mata Atlântica para o estado do Rio de Janeiro (Figura 2).

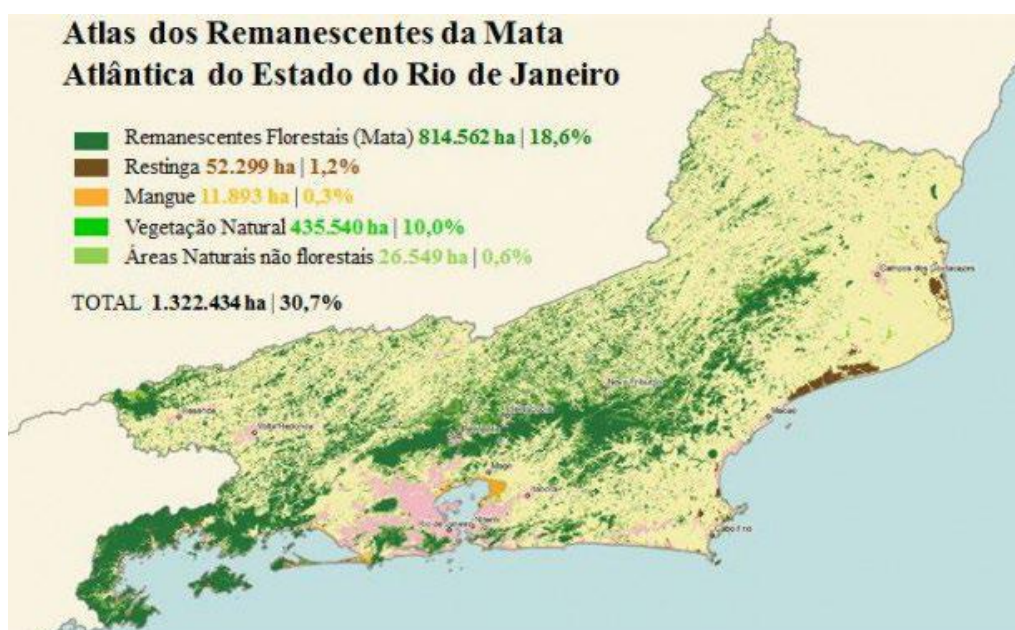


Figura 2. Mapa de distribuição dos principais remanescentes da Mata Atlântica para o estado do Rio de Janeiro. (SOS Mata Atlântica 2019).

A partir dos dados supracitados referentes aos estados de conservação da Mata Atlântica para Rio de Janeiro, é possível verificar o risco em que alguns ecossistemas têm de desaparecer da composição vegetacional do estado. As restingas em especial merecem uma atenção especial, visto o intenso estado de degradação que este ecossistema se encontra. Nesse sentido, é importante a conservação do mesmo, principalmente devido ao papel em que este desempenha na manutenção das áreas costeiras.

2.2 Restinga

As zonas costeiras são regiões de alta instabilidade, e podem sofrer alterações rápidas e dinâmicas de seus habitats. Processos temporais em larga escala podem modificar esses ecossistemas costeiros e levar a formação de planícies arenosas (Cirne et al. 2003). No Brasil, essas planícies arenosas são chamadas de restingas, sendo resultado de regressões marinhas que ocorreram durante o período Quaternário (Scarano 2002; Cirne et al. 2003; Fazolato et al. 2017). Segundo Lacerda et al. (1993), essas planícies arenosas ocorrem preferencialmente em uma faixa que pode variar de 30 a 500 km do litoral Atlântico.

A primeira vez em que o termo restinga foi utilizado na literatura foi em 1785, por naturalistas europeus (Reys 1997), e a partir desse momento essa terminologia passou a ser empregada por geólogos, historiadores, botânicos e ecólogos (Suguió & Tessler 1984). O significado botânico para o termo restinga foi definido por Suguió & Tessler (1984), como “vegetação de restinga”, que é o conjunto de comunidades fisionomicamente distintas que sofrem influências marinhas ou fluvio-marinhas e ocorrem em áreas com grande diversidade ecológica.

Esta “vegetação de restinga” em sua grande maioria é colonizada por espécies que teriam sido originadas de outros ecossistemas e/ou biomas, como Mata de Tabuleiro e Caatinga. No entanto, essas espécies teriam sofrido adaptações devido às condições diferentes de seu ambiente original (Freire 1990; Scarano 2002). A colonização dessas áreas costeiras por espécies oriundas de outros ecossistemas foi de grande importância para o processo de estabilização deste ecossistema (Costa et al. 1984; Tsoar & Arens 2003). Este fato atuou principalmente na compactação do solo de áreas próximas as linhas de marés altas, minimizando assim os efeitos erosivos sobre esse ecossistema (Lamêgo 1946). Assim como promoveu a proteção e a estabilização do substrato contra a ação dos ventos, um dos principais agentes modificadores das paisagens litorâneas (Assumpção & Nascimento 2000).

Estudos sobre a composição florística de ambientes de restinga ainda são escassos, e esse pouco conhecimento influencia na classificação das fisionomias vegetais desse ecossistema (Martins et al. 2007). Cabe ressaltar que para as restingas do estado do Rio de Janeiro, somente a partir da década de 80 foram realizados trabalhos com o propósito de impulsionar o conhecimento a respeito (Araújo & Henriques 1984; Henriques et al. 1986; Rizzini et al. 1990; Sá 1996; Menezes & Araújo 1999; Santos et al. 2004; Sá et al. 2009; Couto et al. 2017). Magnago et al. (2011) identificaram diferentes fitofisionomias

vegetacionais para as restingas do estado do Rio de Janeiro: herbácea inundável e não inundável; arbustiva aberta inundável e não inundável; arbustiva fechada e não inundável; florestal inundável e não inundáveis, *Palmae* e dunas. No entanto, esses autores concentraram seus estudos principalmente entre as restingas de Guaratiba e Macaé. Apesar da região Norte ser a detentora das maiores áreas de restinga do estado do Rio de Janeiro, essas foram praticamente negligenciadas, iniciando os estudos com Assumpção & Nascimento (2000), os quais descreveram a estrutura e composição florística dos diferentes perfis fitofisionômicos da restinga da região.

Assumpção & Nascimento (2000) propuseram uma classificação fitofisionômica para as restingas da região Norte Fluminense que difere das descritas para as demais restingas do estado do Rio de Janeiro: 1. Formação Praial Graminóide (psamófilas reptantes), localizadas desde a linha de maré alta até cerca de 250 metros de distância do mar, e caracterizada por apresentar espécies gramíneas resistentes a salinidade; 2. Formação Praial com Moitas, dispostas em áreas que variam de 250 a 580 metros de distância do mar, sendo caracterizada pelo aparecimento das primeiras moitas de arbusto e pela presença de psamófilas reptantes entre as moitas; 3. Formação de *Clusia*, estende-se até cerca de 980 metros de distância do mar, ocorrendo diminuição de psamófilas reptantes entre as moitas, apresentando árvores de até 4 metros de altura; 4. Formação de Mata de Restinga ocorrem desde 980 a 2500 metros de distância do mar, possuem árvores de até 8 metros de altura e ocorre um adensamento tornando essa mata continua (Figura 3).



Figura 3. Esquema da distribuição das fitofisionomias das restingas do Norte Fluminense proposto por Assumpção & Nascimento (2000). Ilustração de Acervo pessoal

Dentre as áreas de restingas localizadas na região norte do estado do Rio de Janeiro, uma que merece especial destaque é o Complexo Lagunar de Grussaí/Iquipari, devido sua grande extensão e diversidade de espécies.

2.3 Complexo Lagunar de Grussaí/Iquipari

O Complexo Lagunar de Grussaí/Iquipari (CLGI) possui aproximadamente 4,8 mil hectares, localizado no município de São João da Barra, na região norte do estado do Rio de Janeiro (Figura 4A). Este complexo contribui com cerca de 46% (552 Km²) do total de cobertura vegetal de restinga, e com 18% do número de espécies citadas para flora de restinga do estado do Rio de Janeiro (Araújo & Maciel 1998).

A restinga do CLGI apresenta uma peculiaridade que as distinguem das demais restingas do estado do Rio de Janeiro, como a ausência de dunas e a grande extensão de zonas de praia. Esta é considerada, portanto, um elemento distinto no mosaico formado pelas restingas do Norte Fluminense (Assumpção & Nascimento 2000). Vale ressaltar que tal distinção se deve, principalmente, a mudança na direção da linha costeira provocada pela presença do Cabo de São Tomé em Campos dos Goytacazes (Figura 4B). Este fenômeno teria isolado essa formação de restinga das demais restingas do estado. Assumpção (1998) ainda sugere que esse isolamento provocado pelo Cabo de São Tomé tenha influenciado na composição vegetacional dessa restinga, propiciando maior similaridade florística com as restingas do estado do Espírito Santo.

Além disso, a proximidade do CLGI com a foz do Rio Paraíba do Sul, aproximadamente 15 km, teve uma forte influência sobre a formação dessas restingas (Figura 4 A e B). Segundo Lamego (1946), as restingas do CLGI tem origem fluvio-marinhas, onde o rio Paraíba do Sul contribuiu com a deposição de sedimentos, que teriam formados cordões litorâneos paralelos ao mar, que medem de 1 a 3 m de largura, e estão dispostos na forma de arcos abertos voltados para o litoral, ocupando a planície costeira em 30 km de largura (Figura 4C). Além disso, as lagoas de Iquipari e Grussaí, que fazem parte da paisagem do CLGI, teriam sido braços abandonados do rio Paraíba do Sul, que perderam a comunicação com o rio após a construção do canal Quitungute (Figura 4 C e D) (Maciel, 2007).

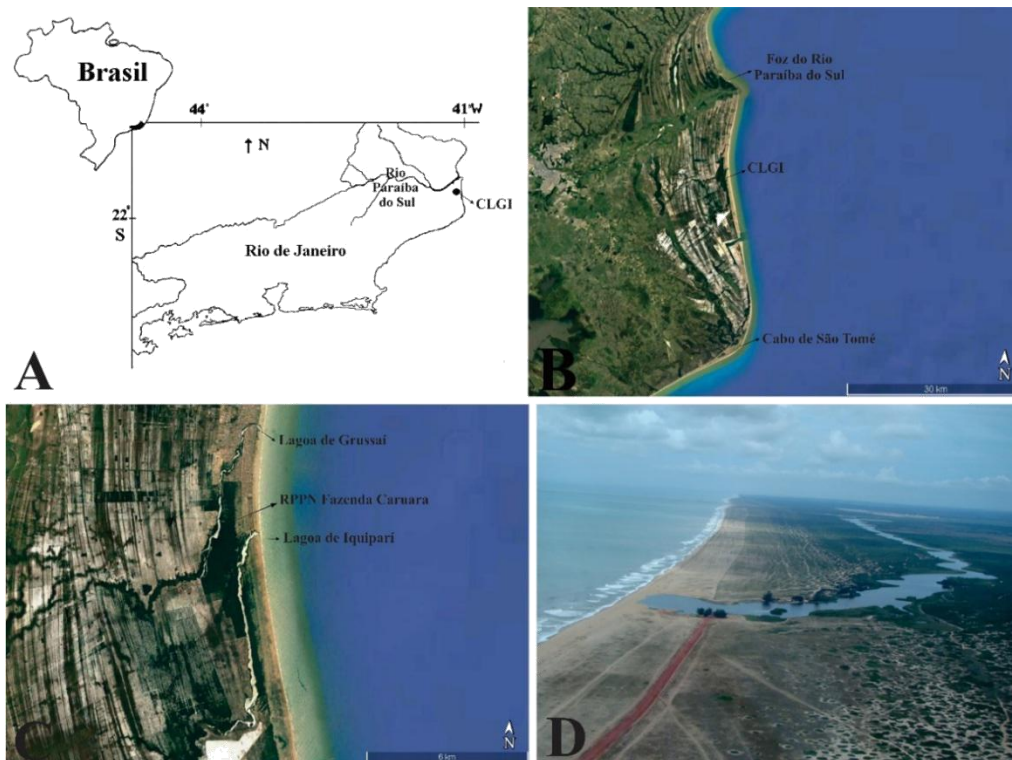


Figura 4. Características gerais do Complexo Lagunar de Grussaí/Iquipari (CLGI). A – Mapa do estado do Rio de Janeiro demonstrando a localização do CLGI. (Adaptado de Assumpção & Nascimento 2000). B – Imagem de satélite mostrando o CLGI entre da foz do Rio Paraíba do Sul e do Cabo de São Tomé. (Google Earth). C – Imagem de satélite mostrando as lagoas de Grussaí e Iquipari, e os cordões litorâneos paralelos ao mar. (Google Earth). D – Vista área do CLGI demonstrando a lagoa de Iquipari (Prumo Logística).

O CLGI tem sofrido uma drástica redução de sua área, resultado da especulação imobiliária, da extração de madeira para carvoaria e de extrativismos da pimenta-rosa (fruto da aroeira), apreciado como condimento na culinária (Assumpção & Nascimento, 2000). Atualmente o CLGI é constituído por pequenos fragmentos isolados de restinga. Dentre esses fragmentos, a RPPN Fazenda Caruara é um dos mais importantes em termos de preservação, e foi estabelecida como uma forma de compensação ambiental pela implantação do Complexo Portuário do Açú.

2.4 RPPN Fazenda Caruara

A Reserva do Patrimônio Privado Natural - RPPN Fazenda Caruara, é o maior fragmento de restinga do CLGI. Este fragmento é considerado o maior remanescente de restinga da região Norte Fluminense com cerca de 5 (cinco) mil hectares. Compreende trechos de restinga em regeneração e áreas antropizadas, em geral, de pastagens desativadas. Este remanescente ainda desempenha um importante papel na conservação

dos corpos hídricos da região, uma vez que estão inseridos dentro de sua extensão, a lagoa de Iquipari, e inúmeros brejos sazonais (Figura 4C) (Ecologus 2011).

Inicialmente, a área da Fazenda Caruara era a primeira alternativa para o assentamento industrial do Porto do Açú, uma vez que apresentavam grandes dimensões em uma única propriedade (Ecologus 2011). Contudo, os estudos preliminares realizados mostraram se tratar de uma área com grande sensibilidade ambiental, por abrigar os mais expressivos remanescentes de restinga do norte do estado do Rio de Janeiro (Ecologus 2011). Em vista disto, esta área foi descartada para fins de implantação de indústrias, tornando-se destinada a implantação de uma Unidade de Conservação da Natureza (UC). A partir da definição da Fazenda Caruara como UC foram iniciados programas de recuperação da flora (Ecologus 2011).

As fitofisionomias vegetacionais presentes na RPPN Fazenda Caruara são as mesmas já descritas por Assumpção & Nascimento (2000) para outro fragmento da CLGI: Formação Praial Graminóide (psamófilas reptantes), Formação Praial com Moitas, Formação de *Clusia*, e Formação de Mata de Restinga.

Apesar de a RPPN Fazenda Caruara ser uma UC bem estruturada, a quantidade de estudos relacionados à flora e fauna da região é escassa. Porém, o presente trabalho busca entender a dinâmica ecológica e de formação da vegetação de restinga do CLGI. Para isso, procura-se compreender como espécies de ecossistemas vizinhos, como a Floresta Estacional Semidecidual de Tabuleiro, podem ter contribuído para a formação das vegetações de restinga do CLGI.

2.5 Floresta Estacional Semidecidual

As Florestas Estacionais Semidecíduais (FES) são caracterizadas por apresentar efeitos fenológicos das folhas bem marcados que acompanham as variações sazonais do ano (Aguiar & Gaglianone 2008; Valentin-Silva et al. 2018). Segundo Oliveira-Filho (2009), o clima deste ecossistema é marcado por uma estação seca e fria, que dura em média de 80 a 160 dias, e tem forte influência sobre a fenologia foliar das espécies. Nos períodos mais secos do ano (inverno), cerca de 20% a 50% das espécies perdem suas folhas com a intenção de restringir a perda de água (Hawes & Peres 2016). Tal característica se restringe aos estratos superiores do dossel, podendo atingir cerca de 30 m de altura (Leite 1994; Estevan et al. 2016).

A queda das folhas nos períodos mais secos do ano na FES tem uma influência direta no aumento da produção de serapilheira (Xu et al. 2016). Sendo assim, a produção

de serapilheira em FES durante o inverno pode atingir $10.646,1 \text{ kg.ha}^{-1}.\text{a}^{-1}$, enquanto no verão a produção não ultrapassa os $8.000 \text{ kg.ha}^{-1}.\text{a}^{-1}$ (Vital et al. 2004). Nesse sentido, as variações sazonais sobre os efeitos fenológicos foliares podem contribuir para aumentar a produção de serapilheira, e favorecer a ciclagem de nutrientes, e o retorno de minerais e matéria orgânica para o solo das florestas (Sloboda et al. 2017).

A Floresta Estacional Semidecidual é marcada por ser uma das formações vegetais mais ricas em espécies, e apresenta uma enorme quantidade de Angiospermas ameaçadas de extinção. Isto ocorre pela enorme heterogeneidade deste ambiente, relacionada a profundidade e composição química do solo, variações altitudinais, e diferentes tipos de relevo (Stehmann 2009).

A heterogeneidade das FES está relacionada a sua ampla distribuição geográfica podendo ocorrer em diferentes estados do território brasileiro, tais como: Bahia, Espírito Santo, Goiás e Mato Grosso do Sul, Rio de Janeiro, Paraná, Minas Gerais, São Paulo, e Mato Grosso (Veloso & Góes-Filho 1982). Especificamente para o estado do Rio de Janeiro, as FES ocorrem majoritariamente na porção norte do estado, sendo caracterizada como Floresta Estacional Semidecidual de Tabuleiro, tendo como principal representante a Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba.

2.6 Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba – Mata de Tabuleiro

As Matas de Tabuleiros são formações geológicas terciárias (Cenozóico), ocorrendo em regiões costeiras que se destacam principalmente pela deposição de sedimentos arenosos e argilo-arenosos com cores vivas, características estas comuns das Formações de Barreiras (Garay et al. 2008). Esse tipo de formação ocorre da costa do estado do Rio de Janeiro até o Pará, constituindo grandes extensões de planaltos costeiros de topos aplainados que terminam de forma abrupta junto às praias formando falésias (RandamBrasil 1983). A vegetação das Matas de Tabuleiro tem como principais características a distribuição de suas espécies ao longo de um gradiente climático (sentido litoral-interior), e o interior da mata apresenta pouca vegetação rasteira e ocorrência de espécies epífitas (Ruschi 1950). Além desses fatores, a esclerofilia é outra característica diferencial das espécies de Mata de Tabuleiro (Rizzini 1979).

A Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba (EEEG) é um dos maiores e mais importantes remanescente de Matas de Tabuleiros costeiros do Norte Fluminense (INEA 2011). Em 1965, apresentava uma área de 4.500 ha, no entanto, devido às intensas atividades de plantio de cana-de-açúcar, pecuária, produção de carvão e comercialização

de madeira, teve sua área reduzida a 1.182 ha (Silva & Nascimento 2001; Abreu et al. 2014). Devido à importância desse remanescente, em 1992 foi reconhecido pela UNESCO como Reserva da Biodiversidade da Mata Atlântica (INEA 2011). Atualmente a área da EEG é de 3.260 ha, sendo que apenas 1.200 ha são de floresta (INEA 2011). No entanto, os limites da floresta tendem a aumentar, uma vez que as áreas de pastagem e de cultivo de cana-de-açúcar, que circundavam a floresta, foram desapropriadas e iniciado o projeto de recuperação dessas áreas degradadas (Figura 5) (INEA 2011).

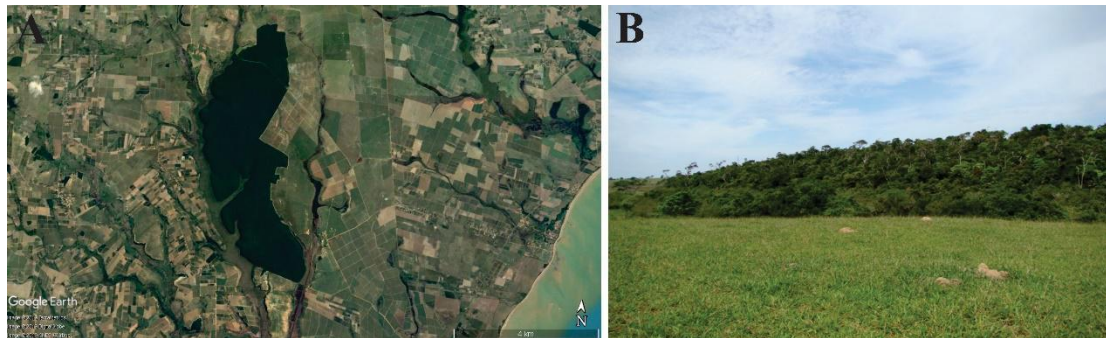


Figura 5. Características gerais da Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba (EEEG). A - Imagem de satélite mostrando a EEG (Google Earth). B – Visão geral da EEG mostrando em primeiro plano as áreas de pastagem e ao fundo a floresta. (Acervo pessoal).

A utilização da EEG como uma das áreas de estudo, se deve principalmente pela existência de espécies vegetais que co-ocorrem no CLGI, e pela proximidade entre esses dois ecossistemas (Figura 6). Essas características teriam facilitado o fluxo de espécies vegetais da EEG para o CLGI e assim contribuído para a formação da vegetação de restinga do Norte Fluminense.

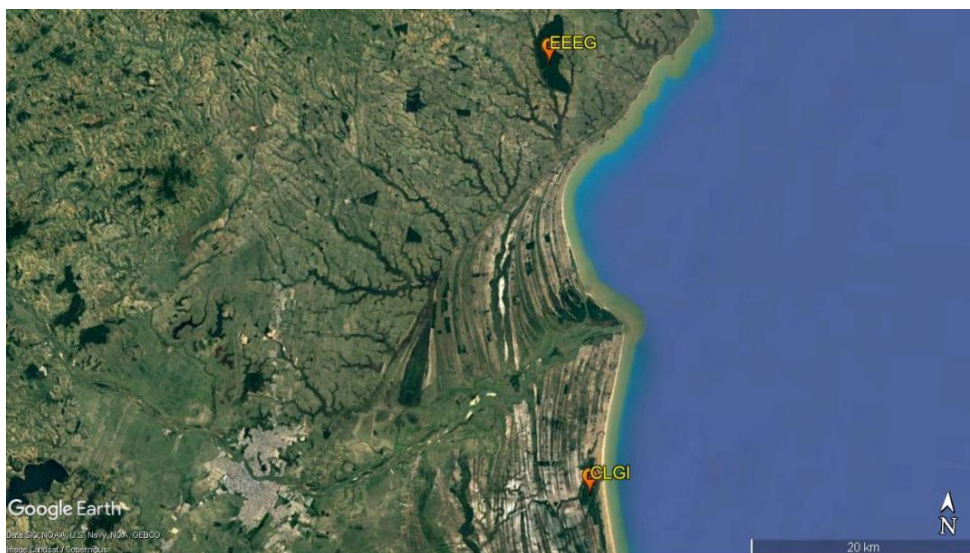


Figura 6. Imagem de satélite mostrando a proximidade (± 40 km) entre a Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba (EEEG) e o Complexo Lagunar de Grussaí/IQUIPARÍ (CLGI) (Google Earth).

2.7 Formação da vegetação de restinga

As restingas foram formadas durante o período Quaternário (Suguio & Tessler 1984; Freitas et al. 2017). Esse período é o mais recente na história geológica da Terra, abrangendo desde 2,6 milhões de anos atrás até o presente (Fazolato et al. 2017). Embora seja recente na história da Terra, este período é marcado por muitos efeitos de glaciações e oscilações do nível do mar, principalmente durante o Pleistoceno (Salgado-Labouriau 2007, Sant'Anna Neto et al. 2005). Os efeitos de transgressão e regressão do mar desempenharam um papel importante no redesenho gradual dos habitats costeiros do Brasil, contribuindo para a formação e evolução das restingas (Dominguez 2006). A maior transgressão do mar teria ocorrido durante o Pleistoceno (± 0.12 milhões de anos atrás), onde o mar atingiu aproximadamente 13 m acima do nível médio atual (Figura 7) (Suguio et al. 2005; Fazolato et al. 2017). Por outro lado, o provável limite da regressão marinha teria ocorrido durante a última máxima glacial ($\pm 0,017$ milhões de anos atrás), durante o Holoceno (Figura 7) (Angulo et al. 2006; Gyllencreutz et al. 2010). Assim, essas variações notáveis do nível do mar podem ter desempenhado um papel importante na diversificação de espécies da fauna e flora que ocorrem nessas áreas costeiras (Fazolato et al. 2017).

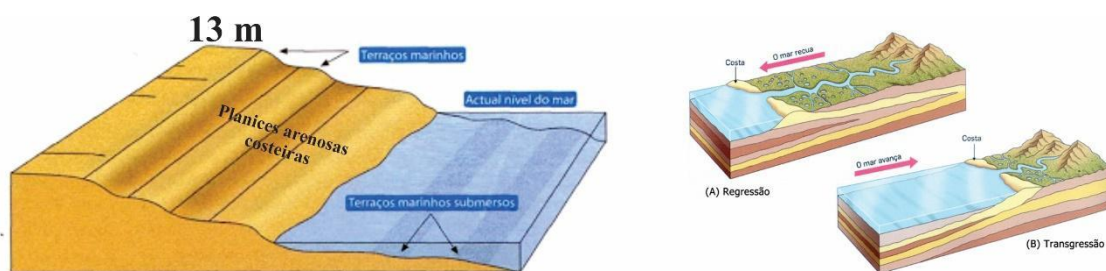


Figura 7. Esquema demonstrando os processos de regressão e transgressão do mar, destacando a oscilação máxima do nível do mar e a formação das planícies arenosas costeiras.

Com relação à formação das vegetações de restinga, os processos de regressão do mar contribuíram diretamente, pois deixaram descobertas uma grande faixa de área (Figura 7), que posteriormente foram colonizadas por espécies oriundas de outros ecossistemas e biomas (Scarano 2002). A influência de outras fitofisionomias atuando na composição da vegetação de restinga foi proposta inicialmente por Lamego (1946) no livro “*O homem e a Restinga*” e, posteriormente, reiterada por Araújo (2000) em seu trabalho “*Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras*”. Araújo (2000) relatou que ecossistemas, como Mata de Encosta, Mata de Tabuleiro, Florestas Ombrófilas Densas e

Mussunungas; e biomas, como Amazônia, Caatinga e Cerrado, teriam sido as principais fitofisionomias que contribuíram para a formação da vegetação de restinga. A maioria das espécies co-ocorrentes nessas fitofisionomias e nas restingas, apresentam métodos de dispersão zoocórica, favorecendo a dispersão das sementes até as áreas costeiras, contribuindo para formação da vegetação de restinga (Castiglioni et al. 1995; Raíces et al. 2010; Amaral et al. 2015). No entanto, como as restingas são ecossistemas recentes, não houve tempo hábil para que essas espécies sofressem especiação (Scarano 2002; Castro et al. 2012). Sendo assim, apenas espécies que apresentaram a capacidade de ajustar suas características fenotípicas foram capazes de ter sucesso na consolidação da vegetação de restinga.

2.8 Plasticidade fenotípica X Integração fenotípica

A plasticidade fenotípica é definida como a capacidade que um dado genótipo tem de expressar diferentes fenótipos, a fim de se obter um ajuste ideal dos atributos funcionais em respostas as condições ambientais (Bradshaw 1965; Valladares et al. 2006). Com base na definição supracitada, o conceito de plasticidade fenotípica só leva em consideração alterações que foram induzidas ambientalmente (Bradshaw 1965; Scheiner 1993). Portanto, variações que não foram induzidas por pressões ambientais, e nem por resultado da interação genótipo x ambiente, não são aceitas como plasticidade fenotípica (Alpert & Simms 2002). Nesse sentido, a plasticidade fenotípica expressa a forma como os organismos se desenvolvem, funcionam e evoluem em seus ambientes (Sultan 2000). No entanto, nem sempre uma maior plasticidade fenotípica representa uma maior performance (plasticidade não-adaptativa) e podem em alguns casos diminuir a performance dos organismos (plasticidade desadaptativa) (van Kleunen & Fisher 2005; Valladares et al. 2007).

A integração fenotípica representa as correlações funcionais entre diferentes atributos das plantas (Pigliucci 2003), e pode atuar como uma importante característica conferindo uma maior adaptabilidade as plantas. Gianoli (2004) sugere que fenótipos mais integrados podem responder mais eficientemente as variações ambientais, do que fenótipos menos integrados. Além disso, fenótipos mais integrados podem aumentar a sobrevivência dos organismos, e reduzir os custos da expressão de atributos não-adaptativos e/ou desadaptativos (van Kleunen & Fischer 2005; Poot & Lambers 2008).

Alguns autores têm destacado que uma maior correlação integrativa dos atributos é mais vantajosa para as plantas, uma vez que não são necessários os ajustes de atributos

independentes, o que diminui dessa forma os *trade-off* ambientais (Kembel & Cahill 2005; Godoy et al. 2011). Nesse sentido, alguns trabalhos demonstram que a integração fenotípica muitas vezes está negativamente correlacionada com a plasticidade fenotípica (Gianoli 2004; Gianoli & Palacio-López 2009). No entanto, Godoy et al. (2012) demonstraram casos onde são avaliados atributos de níveis organizacionais distintos, ocorrendo a correlação positiva entre a integração fenotípica e a plasticidade fenotípica. Nesse caso, ambos passam a atuar sinergicamente na adaptação das plantas as condições ambientais.

Independentemente se o fenótipo é mais integrado ou mais plástico é presumível afirmar que para uma planta co-ocorrer em ambientes com condições ambientais contrastantes é necessário que ocorra ajustes estruturais e fisiológicos para se adaptarem ao ambiente.

2.9 Ajustes estruturais e fisiológicos das plantas em respostas as condições ambientais

As condições ambientais, relacionada a disponibilidade hídrica e a irradiância, entre as restingas e as florestas estacionais semidecíduais (FES) são bastante contrastantes, induzindo alterações estruturais e fisiológicas nas plantas para favorecer a co-ocorrência nas duas áreas.

As condições de altas irradiâncias das restingas podem influenciar diretamente nos aspectos anatômicos das folhas. Nestas condições, o parênquima paliçádico pode apresentar células maiores, ou ser constituído por mais de uma camada, o que tornaria mais eficiente à captação da luz, e propiciaria uma distribuição mais igualitária da mesma ao longo do mesófilo foliar (Vogelmann et al. 1996; Rabelo et al. 2013; Campbell et al. 2018). Além disso, em condições de altas irradiâncias as plantas tendem a apresentar epidermes e cutículas mais espessas, o que favoreceria uma maior refletância da luz, evitando o superaquecimento das folhas (Vogelmann 1993; Brakker et al. 1993).

A baixa disponibilidade hídrica é um fator ambiental bastante limitante para as plantas. Sob esta condição, as plantas tendem a investir em tecidos foliares, o que repercute em folhas mais espessas e suculentas (Kluge & Ting 1978; Schumann et al. 2017). Além disso, é comum as plantas aumentarem o índice de esclerofilia e reduzir a quantidade de espaços intercelulares das folhas (Witkowski & Lamont 1991; John et al. 2017). Estas características estão diretamente relacionadas aos processos de armazenamento e retenção de água nas folhas, propiciando fontes alternativas de água durante períodos de menos disponibilidade hídrica (Lamont & Lamont 2000; Rosado &

de Mattos 2007). Além das alterações foliares, o déficit hídrico também pode induzir mudanças na estrutura do lenho. Em ambientes com pouca disponibilidade hídrica, os elementos de vaso tornam-se mais curtos e com menor área do lúmen, em contrapartida, aumentam a frequência de elementos de vaso por mm^2 (Marques et al. 2015; Campbell et al. 2016 e 2018). Tais características são representativas de espécies vulneráveis a cavitação (Hacke et al. 2006). Nessas condições, as plantas optam por investir e uma maior segurança hídrica e virtude de um comprometimento da eficiência hidráulica (Poorter et al. 2010).

A baixa disponibilidade hídrica e altas irradiâncias nas restingas, além de influenciar os aspectos estruturais da folha, também podem influenciar os processos fotossintéticos. Nessas condições, as plantas tendem a diminuir a condutância estomática para evitar a perda de água por evapotranspiração, aumentando dessa forma à resistência a entrada de CO_2 nas folhas, o que compromete assimilação de CO_2 (Flexas et al. 2012). Em contrapartida, a menor condutância estomática favorece uma maior eficiência do uso da água, aumentando os sinais isotópicos de ^{13}C (Vitória et al. 2016; 2018), uma vez que a Rubisco passa a exercer uma menor discriminação ao ^{13}C (Farquharet et al. 1982). O desempenho fotoquímico do PSII também pode ser comprometido nessas condições, ocorrendo saturação do *pool* de quinonas (fotoinibição dinâmica), ou danos irreversíveis nos centros de reação e no complexo antena do PSII (fotoinibição crônica) (Maxwell & Johnson 2000).

Bioquimicamente, as plantas em condições de estresse hídrico tendem a aumentar a concentração intracelular de carboidratos e de prolinas (Pizard et al. 2011; Rejeb et al. 2014). A maior concentração intracelular dessas moléculas aumenta a pressão osmótica do citoplasma e favorece a entrada de água nas células (Rejeb et al. 2014). Dessa forma, os carboidratos e a prolina são consideradas moléculas osmorreguladoras, que desempenham um papel importante em condições de seca, uma vez que impedem a plasmólise das células (Sánchez et al. 1998). As condições de altas irradiâncias, por sua vez, podem induzir a biossíntese de fenóis e flavonoides, essas moléculas atuam principalmente como filtros fotoprotetores contra altos índices de radiação UV-B (Pérez-López et al. 2018). As plantas quando submetidas a condições de altas irradiâncias aumentam a quantidade de fenóis e flavonoides para evitar que o UV-B provoque o superaquecimento do protoplasto, provocando danos ao DNA e proteínas (Schreine et al. 2014; Julkunen-Tiitto et al. 2015).

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Identificar os principais atributos morfoanatômicos e fisiológicos da folha e do lenho de espécies co-ocorrentes em ecossistemas de restingas e floresta estacional semidecidual (FES), a fim de compreender quais mecanismos adaptativos tornaram possíveis com que estas espécies de FES obtivessem sucesso na colonização das áreas de restinga.

3.2 Objetivos Específicos

- Analisar como os atributos morfológicos, relacionados à massa foliar específica, suculência, espessura, área foliar, e índice de esclerofilia das folhas responderam as variações ambientais entre a restinga e FES;
- Caracterizar comparativamente os aspectos anatômicos do sistema de revestimento, fundamental, e vascular das folhas das espécies co-ocorrentes em ambas as áreas de estudo;
- Avaliar se as condições ambientais contrastantes entre a restinga e a FES influenciaram na condutância estomática (g_s), taxa de transpiração (E) e na assimilação de CO_2 (A) das espécies co-ocorrentes nesses dois ecossistemas.
- Verificar se o rendimento quântico do PSII entre as espécies de restinga e FES foi comprometido em virtude das altas irradiâncias e déficit hídrico nas restingas.
- Determinar o conteúdo de clorofila a , clorofila b , carotenoides, e calcular as razões clorofila a/b , e clorofila/carotenoides, com o intuito de verificar se as condições ambientais contrastantes entre a restinga e floresta influenciaram na quantidade de pigmento fotossintéticos.
- Identificar diferenças na composição isotópica de ^{13}C e ^{15}N da folha, a fim de avaliar a eficiência do uso da água das espécies selecionadas entre duas áreas.
- Quantificar o conteúdo total de carboidratos, prolina, fenol e flavonoides nas folhas, para entender como as plantas respondem bioquimicamente as variações ambientais existentes entre a restinga e FES.
- Descrever e quantificar os tipos celulares do lenho para compreender como as espécies se ajustaram as diferenças na disponibilidade hídrica entre as duas áreas.
- Determinar a condutividade hidráulica potências (Kp) das espécies co-ocorrentes na restinga e FES, a partir das características anatômicas do lenho, a fim de verificar a condição hidráulica dessas plantas.

- Avaliar o índice de plasticidade fenotípica e de integração fenotípica para compreender como essas espécies se ajustaram e se tornaram aptas a co-ocorrerem nos dois ambientes.
- Identificar os principais atributos funcionais que permitiram a co-ocorrência das espécies na restinga e FES.

A presente tese foi dividida em dois capítulos, em que ambos serão destinados à publicação de um artigo:

- **Capítulo 1.** Capacidade aclimatativa dos atributos foliares de espécies co-ocorrentes em ecossistemas de restinga e floresta estacional semidecidual
- **Capítulo 2.** Caracterização anatômica e identificação de atributos funcionais do lenho que capacitaram espécies vegetais de co-ocorrerem em ecossistemas de restinga e floresta estacional semidecidual

CAPÍTULO 1

CAPACIDADE ACLIMATATIVA DOS ATRIBUTOS FOLIARES DE ESPÉCIES CO-OCORRENTES EM ECOSISTEMAS DE RESTINGA E FLORESTA ESTACIONAL SEMIDECIDUAL

* Este trabalho foi submetido à Environmental and Experimental Botany e ainda está sob avaliação.

4. ACCLIMATIZATION CAPACITY OF LEAF TRAITS OF SPECIES CO-OCCURRING IN RESTINGA AND SEASONAL SEMIDECIDUOUS FOREST ECOSYSTEMS

Saulo Pireda^a, Dhiego da Silva Oliveira^a, Neilor LacorteBorges^a, Gabriel do Amaral Ferreira^a, Laura MathiasBarroso^b, Priscila Simioni^c, Ângela Pierre Vitória^d, Maura Da Cunha^{a,*}

^aUniversidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, Centro de Biociências e Biotecnologia. Brazil.

^bUniversidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Laboratório de Entomologia e Fitopatologia, Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil.

^cUniversidade do Estado do Rio de Janeiro, Laboratório de Anatomia Vegetal. Brazil.

^dUniversidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Laboratório de Ciências Ambientais, Centro de Biociências e Biotecnologia. Brazil.

*Corresponding author: maurauenf@gmail.com; Tel: +55 (22) 27397263.

Highlights

- Restinga plants invest in thicker leaves due to high irradiance and water deficit •The water loss in the restinga plants is limited by the density and size of the stomatal
- Restinga species assimilated more ¹³C in response to the lower water supply
- The higher amount of carbohydrate and proline in restinga plants is due to hydric stress
- Adaptation of the species involve plasticity and integrated phenotypes

4.1 Abstract

Restingas and seasonal semideciduous forests (SSF) are phytophysiognomies of the Atlantic Forest that have many co-occurring species. However, the microclimatic and edaphic conditions of these phytophysiognomies are quite different. Restingas are characterized by low water availability, high irradiance and temperatures, and sandy and nutrient poor soil, which contrasts with the soil conditions of forests. In this sense, these environmental divergences would have forced species to become acclimatized in order to co-occur in these two distinct environments. Aimed to determine the main functional leaf traits that enabled *Maytenus obtusifolia*, *Manilkara subsericea* and *Inga laurina* to co-occur in both restinga and SSF. Morphological, physiological, nutritional and biochemical traits of the leaves of these three species in the restinga and SSF were analyzed. The results showed that in the restinga the species possess thicker leaves with a greater thickening of mesophyll cells; the adaxial and abaxial epidermis and cuticle. In addition, restinga leaves had higher specific leaf mass and greater stomatal density, as well as less leaf area than species in the SSF. The restinga species invested in the biosynthesis of osmoregulatory and photoprotective molecules. Photosynthetic performance was similar between phytophysiognomies for *M. obtusifolia* and *M. subsericea*, but *I. laurina* had lower photosynthetic performance in the restinga. We conclude that the species invested in structural, physiological and biochemical adjustments in the restinga in response to conditions of low water availability and high irradiance.

Keywords: Atlantic Forest; morpho-anatomy; gas exchange; chlorophyll *a* fluorescence; phenotypic plasticity; ^{13}C and ^{15}N isotopic composition.

4.2 Introduction

Restingas and seasonal semideciduous forests (SSF) are geographically proximate phytophysiognomies and compose the vegetative mosaic of the Atlantic Forest (Joly et al., 1991; Fundação SOS Mata Atlântica, 2018). Restingas are Holocene sandy plains formed approximately 7,000 years ago as a result of processes of sea regression (Freitas et al., 2017). This marine regression denuded a large strip of sand that was later colonized by plants from other ecosystems (Scarano, 2002). It has been suggested that SSF would have contributed to the consolidation of restinga vegetation (Freire, 1990; Assumpção & Nascimento, 2000; Araújo, 2000), which would explain the high floristic similarity between the two phytophysiognomies (Assumpção & Nascimento 2000; Abreu et al., 2014).

Despite geographic proximity and floristic similarity, the restinga and SSF contrast with regard to vegetative structure and microclimatic and edaphic conditions. Seasonal semideciduous forests are characterized by a well-consolidated canopy, which directly influences the quantity and spectral quality of light (Chazdon and Percy, 1991; Tang and Dubayah, 2017). These forests also provide conditions of lower temperature and higher humidity than the restingas (Scherer-Lorenzen, 2015; Mau et al., 2018). In addition, species occurring in SSF are characterized by well-marked phenological events with the loss of leaves in drier periods (Valentin-Silva et al., 2018), which, in turn, induces the formation of litter thus increasing nutrient availability and soil moisture (Sloboda et al., 2017). Restingas, on the other hand, possess a gradient of increasing vegetation as the distance from the sea increases (Araujo and Oliveira, 1988; Falkenberg, 1999). Although there are areas where the consolidation of trees forms a tenuous canopy, most of this ecosystem consists of scattered shrubs that do not constitute a canopy (Assumpção and Nascimento, 2000). Thus, conditions of irradiance and temperature tend to be higher, while humidity lower, in restingas. In addition, the soil of restingas is sandy with a low capacity to retain water and nutrients (Andrade, 1967; Hay et al., 1981).

The contrasting environmental differences between restinga and SSF ecosystems raises the following question: How can some plant species co-occur in environments with such different environmental conditions? The answer to this question is directly related to the ability of these species to adjust their phenotypic characteristics in response to environmental variation (Merilä and Hendry, 2014; Valladares et al., 2014; Lande, 2015). This interaction between phenotype and environment is defined as phenotypic plasticity (Sultan, 2000) and allows organisms to alter their functional traits at different levels of

organization (morpho-anatomical, physiological, nutritional and biochemical) (Valladares et al., 2007). Thus, evaluations of leaf functional traits are effective in determining the ability of plants to respond to changes in environmental conditions (Via et al., 1995; Sultan, 2004).

Based on the assumption that species need to adjust their functional traits in response to contrasting environments, three main questions guided the present study: (1) What are the main adjustments (morpho-anatomical, physiological, biochemical and nutritional) that allowed the adaptation and co-occurrence of species in restinga and SSF? (2) Are adaptive responses species-specific or is there a pattern of responses directed by the environment that is common to species? (3) Based on the adjustments of the functional traits, is it possible to suggest which environmental variables most influenced the plasticity and/or integration phenotypic? Based on these assumptions, it is expected that for species to co-occur in restinga and SSF, several functional traits of the leaves to be adjustment to maintain plant fitness.

4.3 Materials and Methods

4.3.1 Study area, selected species and period of analysis

The study was conducted in two areas: one of restinga and one of Seasonal Semideciduous Forest (referred to in this study as “forest”). The Reserva Particular do Patrimônio Natural – RPPN Fazenda Caruara (Fazenda Caruara Private Nature Reserve), located in São João da Barra - RJ, Brazil (21°79’71” S, 41°04’25” W), is the largest representative restinga of the Lagunar de Grussaí/Iquipari Complex, with approximately 5,000 ha. The Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba (EEEG; Guaxindiba State Ecological Station), located in São Francisco do Itabapoana - RJ, Brazil (21°41’57” S, 41°07’76” W), is considered one of the largest remnants of Seasonal Semideciduous Forest of Mata de Tabuleiro in the state of Rio de Janeiro. This forest covers a total area of 1,200 ha (INEA, 2011). The study areas are located near the city without industrial activity and port areas in the installation phase. The reports issued by environmental agencies (INEA 2019) indicate that the emission of pollutants in both areas is low, which shows that the effects of pollution on the plant community are very small.

The straight-line distance between these two areas is approximately 40 km (see Figure 3 in Ref [Pireda et al., *in press*]). In spite of their geographic proximity, the two areas possess a contrasting microclimatic, edaphic and vegetative characteristic, which is shown in Table 1 and the Table 3 and Figure 3 in Ref [Pireda et al., *in press*].

Table 1. Microclimatic and edaphic characteristics of restinga and forest ecosystems.

Microclimatic and edaphic characteristics		Restinga	Forest
Microclimatic	Mean Irradiance ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) ^a	1368.8	59.2
	Temperature ($^{\circ}\text{C}$) ^a	33.8	29.9
	Humidity (%) ^a	58.0	65.1
	VPD (KPa) ^b	2.2	1.5
	Canopy Cover (%) ^a	0	77.48
	Weather type ^c	Aw	Aw
		20-30	20-29
	Mean annual precipitation (mm) ^e	800-1200	1000-1200
	Mean precipitation in 2017 (mm) ^f	575.50	1103.98
	Mean wind speed in 2017 (m/s) ^f	4.41	3.13
Edaphic		Marine quartzous sand	Argissolo yellow-alic with sand texture
	Type of soil ^g		
	Relative humidity of soil (%) ^h	2.47	7.90
	Electrical soil conductivity (ds/cm) ^h	0.22	0.65
	Soil organic matter (g dm^{-3}) ^h	14.68	51.36
		5.46	5.42
	Total sand (g/Kg) ^h	982.0	788.8
Clay content (g/kg) ^h	18.0	192.8	
Silte content (g/kg) ^h	0	18.4	

^aValues were obtained at 1.30 m above the ground in each cardinal direction around the individuals between 11:30 and 12:00 h. A thermohygrometer (*HT-30, Intrutherm, Brazil*) was used to measure temperature and humidity; a radiometer (*LI-250A, Li-Cor Inc., USA*) was used to measure irradiance; a spherical densitometer (*Model-A, Forestry Suppliers, Inc., USA*), was used to measure canopy cover.

^bVPD was calculated as: e_s/e_a (e_s : saturated vapor pressure of the air; e_a : vapor pressure of the air).

^cClimate type was determined according to Alvares et al. (1983).

^dMean annual temperature for the restinga was determined by Assumpção and Nascimento (2000) and for the forest by Abreu et al. (2014).

^eMean annual precipitation for the restinga was determined by Assumpção and Nascimento (2000) and for the forest by Villela et al. (2006).

^fPrecipitation and wind speed for the year 2017 were measured using a meteorological station (Hobo Data Loggers, Onset, Germany).

^gThe soil type for the restinga was determined by RadamBrasil (1983) and for the forest by Villela et al. (2006).

^hSoil analyses were performed at the Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Campus Campos dos Goytacazes according to the methodology of Embrapa (1997).

The species were selected according to Assumpção and Nascimento (2000), for the restinga area (RPPN Fazenda Caruara), and Abreu et al. (2014) for the forest area (Tabuleiro Seasonal Semideciduous Forest - EEG). Three species were selected: *Maytenus obtusifolia* Mart. (Celastraceae), *Manilkara subsericea* (Mart.) Dubard (Sapotaceae) and *Inga laurina* (Sw.) Willd. (Fabaceae) (see Figure 3 in Ref [Pireda et al., *in press*]). The criteria for selecting these species were: co-occurrence in the two

ecosystems; high importance value index (IVI); and relative frequency (RF). Five individuals were selected for each species in each ecosystem and five leaves were collected from the third node for morpho-anatomical, ecophysiological, nutritional and biochemical analyses. All analyses and collections of material were carried out in the rainy season (January and February) of 2017. In the restinga, the species occurred in the Beach Grass and Shrub Formation, located to 250 m of the distance of the line of seas (Assumpção & Nascimento, 2000).

4.3.2 Measurement of leaf morphological parameters

Five fully expanded leaves from the five individuals selected for each species ($n = 25$ for each species) each of study areas were used for measuring morphological parameters. Discs of 0.5 cm in diameter were removed from the median third of the leaves. The discs were submitted to hydration for 24 h for subsequent determination of saturated mass ($M_{\text{saturated}}$), in a digital balance (AY220, Shimadzu), and thickness (THIC) mm), with a digital caliper (Stainless, Hardened). The hydrated discs were placed in an oven set at 55 °C for 72 h to obtain dry mass (M_{dry}). These parameters were used to calculate succulence (SUC g m^{-2}) = $M_{\text{saturated}} - M_{\text{dry}} / \text{Area}_{\text{disc}}$ (Kluge and Ting, 1978); leaf specific mass (LSM g m^{-2}) = $M_{\text{dry}} / \text{Area}_{\text{disc}}$ (Kluge and Ting, 1978); and the sclerophylly index ($\text{SI} = M_{\text{dry}} / 2 * \text{Leaf area}$ (Rizzini, 1976). To determine leaf area (LA cm^2), leaves used for other morphological analyses were scanned and measured for area using Image J digital image processing system.

4.3.3 Measurement of leaf anatomical characteristics

The same leaf sampling protocol used in the morphological analysis was used for measuring the thickness of following leaves tissues: adaxial and abaxial epidermis and cuticle, palisade and spongy parenchyma, and leaf mesophyll. Free-hand cross sections of the median third of leaves were observed using a light-field optical microscope (Axioplan, ZEISS, Germany) coupled to an image capture system (Moticam Pro 282B, Hong Kong). Five images per leaf were captured, with three fields of measurements for each image, which were analyzed using Image Pro-Plus digital system. The epidermis was dissociated by the Franklin method (Franklin, 1945) to determine the density (mm^2), length (μm), width (μm), and area (μm^2) of the stomata. In addition, fragments of the vascular system of the leaves were removed and observed under light and dark field microscopy (Axioplan, ZEISS, Germany) coupled to an image capture system (Moticam Pro 282B, Hong Kong).

4.3.4 Light microscopy

Three leaves of each species were selected for analysis by light microscopy. Fragments of the median third of the leaf blade were fixed in a solution of 2.5% glutaraldehyde, 4% formaldehyde and 0.05M sodium cacodylate buffer at pH 7.2 (Karnovsky, 1965 modified by Da Cunha et al., 2000). Post-fixed in 1% osmium tetroxide and 0.05M sodium cacodylate buffer for 2h at room temperature. The samples were then dehydrated in an increasing series of acetone and infiltrated and embedded in epoxy resin (Epon[®]). Semi-fine sections (70 μm) were obtained with an ultramicrotome (Reichert Ultracuts Leica Instruments[®]), which were stained with 1% toluidine blue and 1% borax buffer (Johansen, 1940) and observed under a light microscope (Axioplan, ZEISS, Germany) coupled to an image capture system (Moticam Pro 282B, Hong Kong).

4.3.5 Scanning electron microscopy

After fixation and dehydration, samples were submitted CO₂ critical point drying (CPD 030, Baltec). The samples were then adhered to stubs with carbon tape and covered with a layer of approximately 20 nm of gold (SCD 050, Baltec, Switzerland). Images were obtained using a scanning electron microscope (EVO 40, ZEISS, Germany) at a voltage of 15 KV.

4.3.6 Gas exchange

For analysis of gas exchange five completely expanded leaves were selected from each of the five individuals selected for the three species in the restinga and forest, for a total of $n = 50$ leaves per species. These analyses were performed at 8h and 12h with the aid of a portable infrared carbon dioxide analyzer (LCpro-SD, ADC BioScientific Ltd., UK), with a chamber with controlled irradiance conditions at $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The temperature and humidity conditions were not controlled, and environmental conditions were used. The CO₂ was captured directly from the environment approximately 2 m in height above the leaf surface, with the aid of an air probe. The parameters evaluated were: liquid photosynthetic rate ($A \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiration rate ($E \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and stomatal conductance ($gs \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

4.3.7 Chlorophyll *a* fluorescence

The emission of chlorophyll *a* fluorescence was measured for the same leaves selected for gas exchange analysis with the aid of a portable fluorimeter at 8h and 12h (OS5p Opti-Sciences, UK). For this, the leaves were submitted to dark adaptation for 30

min and then exposed to low intensity modulated red light at approximately $6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ at 660 nm, followed by exposure to high intensity actinic white light ($10,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) applied for 0.8 seconds (Genty et al., 1989; Van Kooten and Snel, 1990). The determined variables were

maximum quantum yield of PSII (F_v/F_m) and quantum efficiency of PSII (Y_{II}).

4.3.8 Photosynthetic pigments

For analysis of photosynthetic pigments, 0.5 cm diameter discs were taken from the same leaves used for chlorophyll *a* fluorescence emission analysis. The discs were kept in plastic tubes containing 5.0 ml of organic solvent (dimethyl sulfoxide, DMSO) and kept from light for five days. The organic solvent was then analyzed in a spectrophotometer (TCC-240A, Shimadzu, Japan) at wavelengths of 480, 649 and 665nm. Calculations to determine the concentrations of chlorophyll *a* and *b* and carotenoids, and the ratios chlorophyll *a/b* and total chlorophyll/carotenoids, followed Wellburn (1994).

4.3.9 Biochemical analyses

The biochemical analyses consisted of determining the content of soluble carbohydrate (mg g^{-1}), proline ($\mu\text{g g}^{-1}$), phenols (mg g^{-1}) and flavonoids (mg g^{-1}). Each analysis used 100 mg of dried leaf per individual for each species for a total of $n = 10$ for each species. Soluble carbohydrate content was determined by the method of Robyt and White (1987), while proline content was determined by the method of Bates et al. (1973). Phenols were determined by the method of Soland and Laima (1999), and the flavonoid content by the method of Krizek et al. (1998). Triplicate experiments ($n=10$) were performed for each type of test to confirm the data.

4.3.10 Isotopic concentration of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$

For determining the isotopic composition of ^{13}C and ^{15}N five leaves were selected per individual for each species in each ecosystem. The leaves were dried in an oven at 60°C for 72h and then macerated. After maceration, the five leaves per individual were homogenized, totaling $n = 10$ per species. The homogenized material was subsequently weighed (1.5 mg) in a precision analytical balance. The data was obtained using a Thermo Finnigan Delta V Advantage mass spectrometer coupled to a Flash 2000 (Thermo 26 Fisher Scientific em Bremen, Germany) elemental analyzer at the Laboratório de Ciências Ambientais (LCA) – UENF. Pee Dee Belemnite (PDB) and atmospheric N were used

as standard values for C and N analyses, respectively. The analytical precision was $\pm 0.1\%$ for $\delta^{13}C$ and $\pm 0.2\%$ for $\delta^{15}N$, while the precision of the elemental and isotopic compositions was determined by certified standard (Protein OAS/IsotopeCert 114859; Elemental Microanalysis).

4.3.11 Leaf nutritional analysis

For nutritional analysis of leaves, approximately 500g of fresh leaves per individual were collected for each species, for a total $n = 10$ per species, to evaluate C, N, and P content and the C/N ratio. The analyses were performed at Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus – Campos dos Goytacazes, Brazil, following the methodology of Embrapa (2000).

4.3.12 Relative distance plasticity index and phenotypic integration

The relative distance plasticity index (RDPI) was calculated for all functional traits according to Valladares et al. (2006). Values of RDPI range from 0 to 1 and allow comparisons to be made between traits with different units (Valladares et al., 2000). RDPI is obtained from the equation:

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

Where:

i – corresponds to study areas (restinga and forest), ($i = 1$ and 2);

j – corresponds to repetitions by study areas, ($j = 5$ - individuals);

n – corresponds the total sample size ($n = 10$ - individuals);

x_{ij} - trait value of a given individual, subjected to the two study areas (restinga and forest). For a single trait, we consider a rectangular matrix x_{ij} where i (rows) represent of the study areas and j (column) represents of the repetitions.

$d_{ij \rightarrow i'j'}$ – corresponds to the relative distance between traits, where the values of the repetitions are subtracting in pairs, where ij (restinga) different from $i'j'$ (forest).

$\sum x_{i'j'} + \sum x_{ij}$ – corresponds the sum of the repetitions in pairs.

Phenotypic integration (%IF) was calculated for each species as the percentage of significant correlations in the entire set of evaluated traits ($p \leq 0.05$, Pearson correlation), where mean values of the traits for each species and the total number of significant correlations were obtained. The percentage of phenotypic integration (%IF) was calculated as the ratio between the total number of correlations between the traits

($N^{\circ}\text{CorrelationsTotal}$) and the number significant correlations ($N^{\circ}\text{CorrelationsSignificant}$) (Schlichting, 1986; Schlichting and Pigliucci, 1998).

$$(\% \text{IF} = [(N^{\circ}\text{CorrelationsSignificant} * 100) / N^{\circ}\text{CorrelationsTotal}])$$

The %IF ranges from 0 to 100% (or from 0 to 1), where 0 represents no integration and 100% (or 1) represents maximum integration of the system (Godoy et al., 2012). The data were obtained by Sigma Plot 11.0 software package (SPSS; Chicago, IL, USA).

4.3.13 *Statistic analysis*

Normality of the data was assessed using the Shapiro-Wilk test (Shapiro and Wilk, 1965) when $n < 30$ and the Kolmogorov-Smirnov test (Hollander and Wolfe, 1973) when $n > 30$. Homogeneity of the data was tested by the Levene test (Zar, 2010). The T-test was used to evaluate the significance of differences between means (Zar, 2010), using Statistica7 software (Statsoft, 1993). Principal component analysis (PCA) was based on the comparison of quantitative leaf characteristics between species and study areas (Ludwing and Reynolds, 1988), and was performed with the program Past, Version 2.16 – Paleontological Statistics (Hammer et al., 2001). The Pearson correlation analysis was performed using the Sigma Plot 11.0 software package (SPSS; Chicago, IL, USA).

4.4 Results

4.4.1 *Leaf morpho-anatomical attributes*

The three species had thicker and more succulent leaves in the restinga but with smaller leaves area than in the forest (Table 2 and see Figure 1 in Ref [Pireda et al., *in press*]). The LSM and sclerophylly index were higher for *M. obtusifolia* and *M. subsericea* in the restinga, and did not differ between areas for *I. laurina* (Table 2). The leaves also had with thicker palisade and spongy parenchyma cells, and adaxial and abaxial epidermis and cuticles in the restinga, as well as a greater palisade/spongy ratio, than in the forest (Table 2 and see Figure 1 in Ref [Pireda et al., *in press*]). In addition, restinga species present higher stomatal density, but stomata are smaller in size than those of forest species (Table 2).

Table 2. Mean values (\pm standard deviation) of morphoanatomical traits of the species *M. obtusifolia*, *M. subsericea* and *I. laurina* in restinga and forest. Asterisks indicate significant differences between restinga and forest ecosystems (T-test, $p \leq 0.05$).

Traits	<i>M. obtusifolia</i>						<i>M. subsericea</i>						<i>I. laurina</i>					
	Restinga			Forest			Restinga			Forest			Restinga			Forest		
Morphology	Thickness (mm)	0.37	\pm 0.05*	0.23	\pm 0.03		0.31	\pm 0.04*	0.24	\pm 0.02		0.23	\pm 0.04*	0.19	\pm 0.03			
	Succulence (g m^{-2})	268.59	\pm 48.48*	204.94	\pm 30.92		244.03	\pm 33.37*	197.91	\pm 28.97		170.60	\pm 35.69*	141.35	\pm 28.93			
	LSM (g m^{-2})	180.54	\pm 34.54*	102.11	\pm 15.27		163.26	\pm 22.17*	120.66	\pm 11.11		117.66	\pm 13.77	109.50	\pm 25.94			
	Sclerophylly index	0.61	\pm 0.08*	0.31	\pm 0.05		0.50	\pm 0.07*	0.37	\pm 0.03		0.36	\pm 0.04	0.34	\pm 0.08			
	Leaf area (cm^2)	13.03	\pm 3.34*	36.45	\pm 10.49		12.21	\pm 3.78*	29.71	\pm 8.72		10.71	\pm 2.36*	29.12	\pm 7.30			
Anatomy	Leaf blade (μm)	301.91	\pm 28.45*	220.49	\pm 24.75		273.72	\pm 26.93*	224.12	\pm 14.64		217.69	\pm 31.95*	189.31	\pm 27.66			
	Palisade parench. (μm)	112.95	\pm 29.51*	68.25	\pm 15.18		114.44	\pm 16.09*	84.89	\pm 10.36		109.82	\pm 21.48*	92.90	\pm 21.67			
	Spongy parench. (μm)	139.36	\pm 19.19*	111.70	\pm 23.10		116.05	\pm 20.57*	106.27	\pm 12.17		80.81	\pm 14.69*	72.50	\pm 10.71			
	Palisade/Spongy	0.84	\pm 0.28*	0.62	\pm 0.16		1.02	\pm 0.26*	0.81	\pm 0.16		1.38	\pm 0.25*	1.29	\pm 0.29			
	Adaxial ep. (μm)	11.01	\pm 1.33*	7.80	\pm 1.39		15.04	\pm 2.98*	12.13	\pm 1.71		10.08	\pm 1.93*	7.49	\pm 1.45			
	Adaxial cut. (μm)	5.66	\pm 0.97*	3.70	\pm 0.73		6.62	\pm 1.10*	3.65	\pm 0.62		3.48	\pm 0.58*	2.74	\pm 0.47			
	Abaxial ep. (μm)	10.32	\pm 1.56*	7.89	\pm 1.40		6.09	\pm 1.54*	5.15	\pm 1.23		8.42	\pm 1.76*	7.28	\pm 1.20			
	Abaxial cut. (μm)	7.12	\pm 1.32*	4.47	\pm 0.72		3.19	\pm 0.97*	2.48	\pm 0.53		3.11	\pm 0.47*	2.58	\pm 0.54			
	Stomatal density (mm^2)	79.92	\pm 7.01*	70.76	\pm 6.87		36.24	\pm 4.44*	32.92	\pm 3.52		81.92	\pm 8.41*	59.88	\pm 6.62			
	Stomatal length (μm)	20.92	\pm 3.63*	28.65	\pm 3.96		28.22	\pm 2.92*	32.03	\pm 2.63		23.16	\pm 2.73*	26.23	\pm 2.92			
	Stomatal width (μm)	17.68	\pm 3.88*	25.72	\pm 3.71		24.12	\pm 3.01*	27.69	\pm 2.25		18.93	\pm 2.73*	24.08	\pm 2.92			
	Stomatal area (μm)	312.71	\pm 104.59*	629.58	\pm 145.21		524.96	\pm 89.54*	719.22	\pm 99.11		353.73	\pm 60.35*	446.57	\pm 92.03			

Leaf dry mass was positively correlated with the leaf thickness, palisade and spongy parenchyma, adaxial and abaxial cuticles, and with the C/N ratio, and negatively correlated with N and P leaf content in the restinga (Table 3). See the mean values for N, P, C and C/N between study area in Table 2 in Ref [Pireda et al., *in press*].

Table 3. Comparison of Pearson correlations, between mean values of LSM and various leaf traits (thickness of leaf, palisade, spongy and adaxial and abaxial cuticle; N, P, content and C/N ration), between restinga and forest. Values of r in bold indicate significant differences for the correlations ($p \leq 0.05$).

Traits	Restinga		Forest	
	r	p	r	p
Thickness	0.923	<0.0001	0.487	0.0654
Palisade	0.543	0.0366	0.678	0.00548
Spongy	0.808	0.00027	0.226	0.417
Adaxial cut.	0.717	0.00263	0.178	0.526
Abaxial cut.	0.657	0.00774	-0.238	0.392
N	-0.856	<0.0001	-0.0723	0.798
P	-0.703	0.00347	-0.0383	0.892
C/N	0.877	<0.0001	0.0315	0.911

Leaf venation pattern differed between the restinga and forest for all three species. A larger number of veins, mainly of the quaternary calibers, were observed in restinga leaves than in forest leaves (Figure 1). Scanning electron microscopy revealed a greater deposition of epicuticular wax on both leaf surfaces in the restinga (Figure 2). The epicuticular wax deposited on the adaxial surface had greater ornamentation in restinga leaves than in forest leaves (Figure 2 A, B, E, F, J, and K). Additionally, it was possible to observe that the stomata in *M. subsericea* were located below the epicuticular wax layer of the abaxial surface (Figure 2 I).

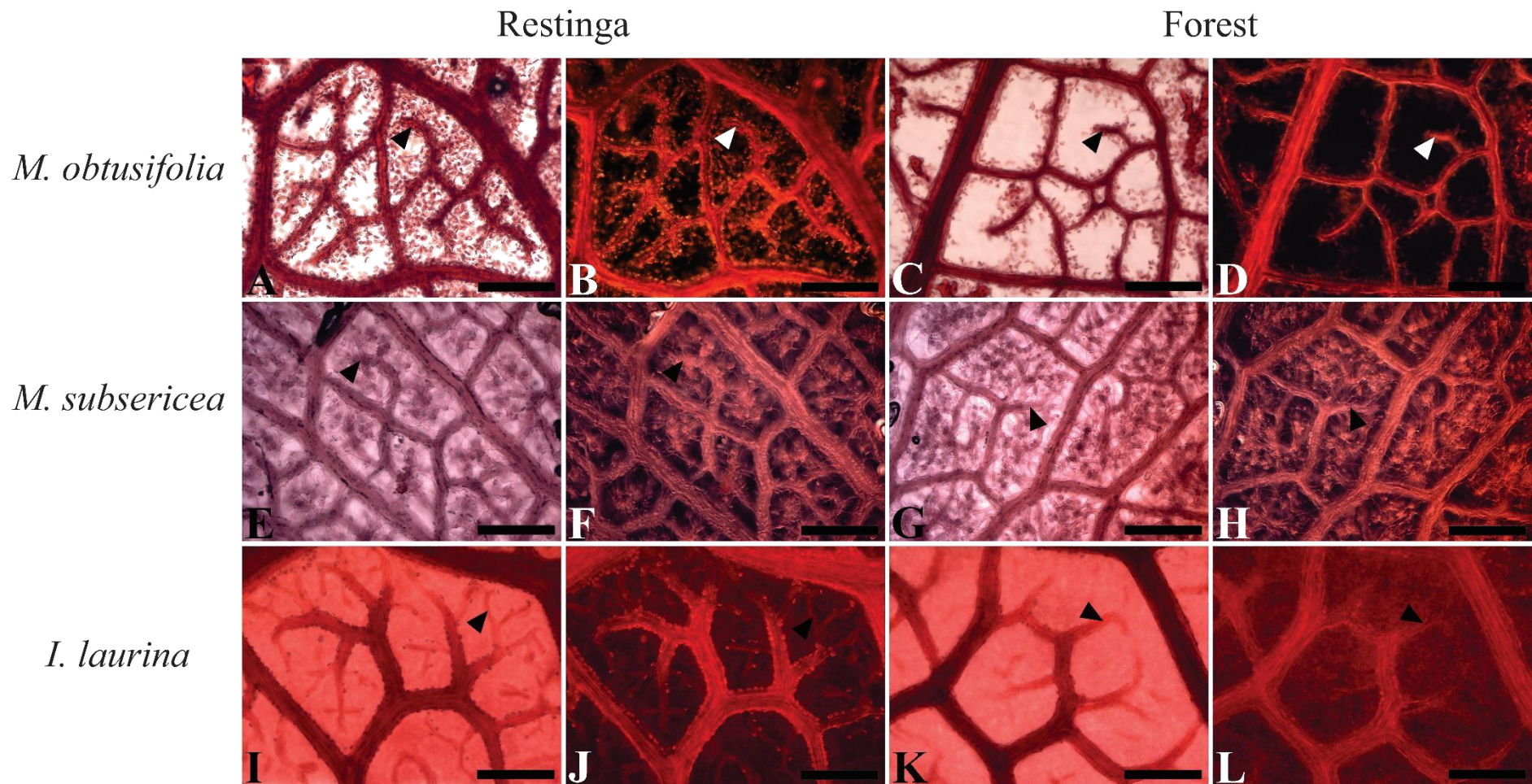


Figure 1. Leaf venation pattern of *M. obtusifolia*, *M. subsericea* and *I. laurina* in restinga and forest. A, C, E, G, I and K – light microscopy; B, D, F, H, J and L – dark field. Arrowhead indicates quaternary veins. Bars: A – N: 100 μ m.

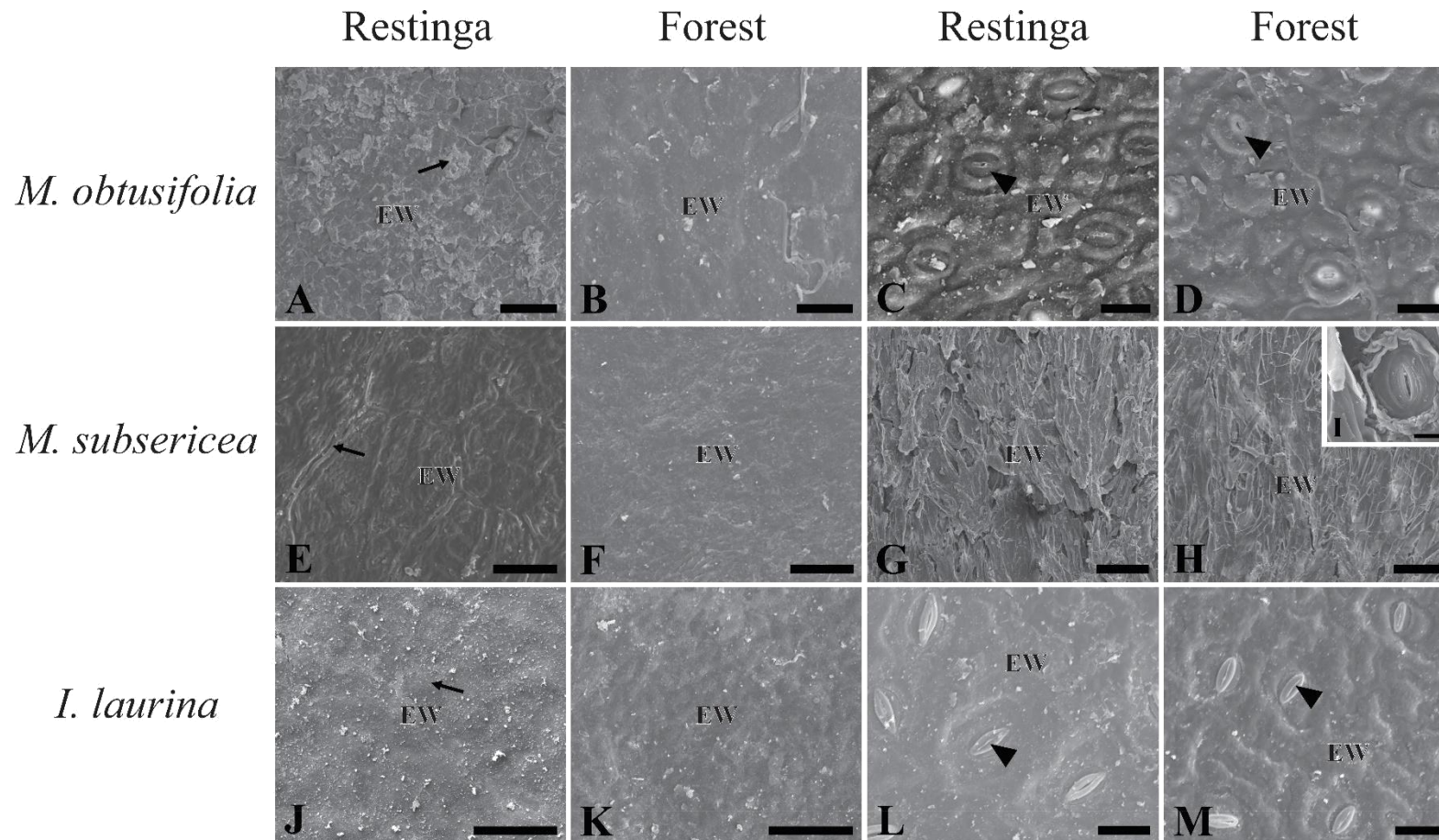


Figure 2. Deposition of epicuticular wax on the leaves of *M. obtusifolia*, *M. subsericea* and *I. laurina* in restinga and forest, observed under scanning electron microscopy. A, B, E, F, J, and K – Adaxial surface. C, D, G, H, L, and M – Abaxial surface. I - Detail of the stomata located below the epicuticular wax in *M. subsericea*. Arrows indicate the presence of the ornamentation in epicuticular wax in the restinga. Arrowheads indicate of the stomatal. EW – epicuticular wax. Bars: A and B – 50 μm ; C, D, E, F, J e K – 25 μm ; G e H – 100 μm ; I – 10 μm ; L and M – 20 μm .

1 4.4.2 Gas exchange

2 The results of gas exchange analyze represent the mean values of the analyzes
3 performed at 8h and 12h. However, the mean values of the analyzes performed at 8h and
4 12h can be observed in Figure 2 in Ref [Pireda et al., *in press*].

5 The assimilation of CO₂ ($A \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) did not differ significantly between areas
6 for *M. obtusifolia* and *M. subsericea*. However, the values of *A* for *I. laurina* in the
7 restinga were significantly lower than in the forest (Figure 3A). The analyses performed
8 during the day (8h and 12h) revealed that the assimilation of CO₂ ($A \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) by *M.*
9 *obtusifolia* and *M. subsericea* in the restinga 8h was equal to forest 8h, and significantly
10 higher to forest 12h. On the other hand, *I. laurina* presented lower values of *A* in the
11 restinga at both times. (see Figure 2 in Ref [Pireda et al., *in press*]). Stomatal conductance
12 ($gs \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) was higher in the forest than in the restinga for all three species (Figure
13 3B). In the compare between 8h and 12h, the values of the *gs* always were higher in the
14 forest in relationship the restinga, and it was possible to verify a decay of *gs* throughout
15 the day in the two areas (see Figure 2 in Ref [Pireda et al., *in press*]). Transpiration rate
16 ($E \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) was higher in the forest for *M. obtusifolia* and *I. laurina*, but did not
17 differ significantly for *M. subsericea* (Figure 3C). The *E* presented a reduction in the
18 values during the day in the two areas, where it was possible to verify that the values of
19 the *E* in forest 12h are similar to restinga 12h. On the other hand, in the compare between
20 restinga and forest at 8h, only *M. subsericea* presented similar values (see Figure 2 in Ref
21 [Pireda et al., *in press*]).

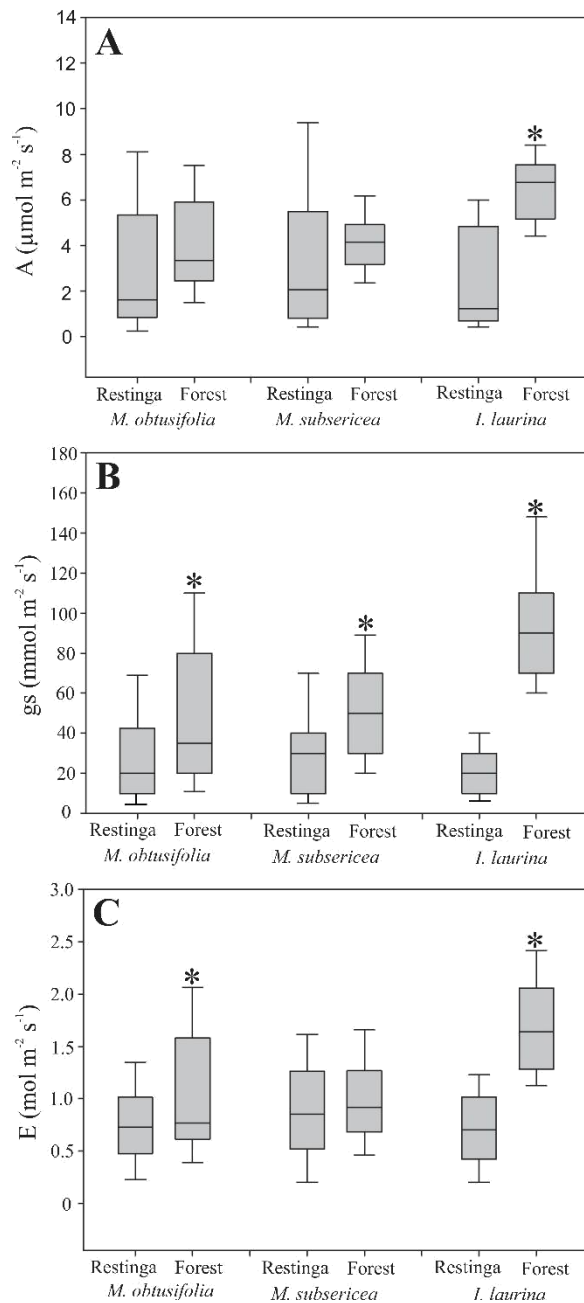


Figure 3. Box plots represent the median values of the analyses performed at 8h and 12h in the two study areas, with the aim of evaluating the daily photosynthetic performance of the three studied species. A – Liquid photosynthetic rate ($A \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). B – Stomatal conductance ($g_s \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). C – Transpiration rate ($E \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Asterisks indicate significant differences between the restinga and forest (T-test, $p \leq 0.05$).

1
2
3
4
5
6
7
8
9

The stomatal density and area were significantly correlated with photosynthetic parameters only in the restinga, where stomatal density was negatively correlated with E and g_s , while a stomatal area was positively correlated with the same parameters. On the other hand, A was not influenced by these stomatal characteristics (Table 4).

1 **Table 4.** Comparison between restinga and forest for Pearson correlations between mean
 2 values of stomatal density and area and physiological traits (*A*, *E* and *gs*). Values of *r* in
 3 bold indicate significant differences between correlations ($p \leq 0.05$).

Traits	Restinga			Forest			
	<i>A</i>	<i>E</i>	<i>gs</i>	<i>A</i>	<i>E</i>	<i>gs</i>	
Stomatal density	<i>r</i>	-0.570	-0.639	-0.918	0.0833	-0.237	-0.535
	<i>p</i>	0.109	0.0201	0.000475	0.831	0.394	0.137
Stomatal area	<i>r</i>	0.541	0.915	0.956	-0.526	-0.263	-0.256
	<i>p</i>	0.133	0.00053	0.00004	0.146	0.495	0.507

4

5 4.4.3 Chlorophyll *a* fluorescence and photosynthetic pigments

6 The leaves in the forest had higher quantum yield of PSII (*YII*) for all three species,
 7 with values ranging 0.56–0.71, while in the restinga the values ranged 0.31–0.37 (Table
 8 5). Maximum quantum yield of PSII (F_v/F_m) differed significantly between the study
 9 areas for *M. subsericea* and *I. laurina*, with greater values in the forest where both species
 10 had $F_v/F_m = 0.78$, while in the restinga the value for *M. subsericea* was $F_v/F_m = 0.76$ and
 11 for *I. laurina* $F_v/F_m = 0.73$ (Table 5). The species *M. obtusifolia* did not have significant
 12 difference between the areas, with values ranging 0.76–0.77 (Table 5). Values of the
 13 analyses carried out during the day (8h and 12h) revealed a reduction in *YII* values at 12h
 14 in the restinga for all three species, which was only observed in the forest for *M.*
 15 *obtusifolia*. In addition, *YII* values in the restinga were lower than in the forest at both
 16 times. The ratio F_v/F_m of either hour did not differ between restinga and in the forest for
 17 *M. obtusifolia* and *M. subsericea*; however, *I. laurina* had much lower values in the
 18 restinga than in the forest for both hours (see Table 1 in Ref [Pireda et al., *in press*]).

19 Chlorophyll *a* and *b* content in the leaves was higher in the forest for *M. obtusifolia*
 20 and *M. subsericea*, while the carotenoid content was higher for *I. laurina* in the restinga
 21 (Table 5). The chlorophyll *a/b* ratio was greater in the restinga for *M. obtusifolia* and *M.*
 22 *subsericea*, while the chlorophyll/carotenoids ratio was greater in the forest for all three
 23 species (Table 5).

Table 5. Mean values (\pm standard deviation) for the traits: YII and F_v/F_m (chlorophyll a fluorescence); chlorophyll a and b , carotenoids, and the ratios chlorophyll a/b and chlorophyll/carotenoids (photosynthetic pigments); $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ (isotopic composition); carbohydrates, proline, phenols and flavonoids (biochemistry) of the leaves of the species *M. obtusifolia*, *M. subsericea* and *I. laurina* in restinga and forest. Asterisks indicate significant differences between restinga and forest (T-test, $p \leq 0.05$).

Species	<i>M. obtusifolia</i>			<i>M. subsericea</i>			<i>I. laurina</i>					
	Restinga		Forest	Restinga		Forest	Restinga		Forest			
YII^a	0.37	\pm 0.119*	0.71	\pm 0.043	0.31	\pm 0.129*	0.678	\pm 0.03	0.34	\pm 0.161*	0.56	\pm 0.091
F_v/F_m^a	0.76	\pm 0.023	0.77	\pm 0.031	0.76	\pm 0.016*	0.78	\pm 0.016	0.73	\pm 0.041*	0.78	\pm 0.015
Chlorophyll a ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	0.0389	\pm 0.0117*	0.0535	\pm 0.013	0.0451	\pm 0.0120*	0.0658	\pm 0.0081	0.0534	\pm 0.0115	0.0488	\pm 0.0138
Chlorophyll b ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	0.0199	\pm 0.0058*	0.0307	\pm 0.0073	0.0245	\pm 0.0068*	0.0367	\pm 0.0048	0.0264	\pm 0.0083	0.0230	\pm 0.0077
Carotenoids ($\mu\text{mol cm}^{-2}$)	0.0138	\pm 0.0028	0.0135	\pm 0.0026	0.0158	\pm 0.0018	0.0178	\pm 0.0020	0.0167	\pm 0.0039*	0.0109	\pm 0.0029
Chlorophyll a/b	1.944	\pm 0.071*	1.743	\pm 0.070	1.848	\pm 0.096*	1.796	\pm 0.066	2.082	\pm 0.245	2.145	\pm 0.088
Chlo/Carot.	4.203	\pm 0.675*	6.178	\pm 0.55	4.362	\pm 0.819*	5.751	\pm 0.523	4.900	\pm 1.235*	6.603	\pm 0.586
$\delta^{13}C$ (‰)	-27.28	\pm 0.86*	-31.28	\pm 0.94	-27.44	\pm 0.42*	-30.67	\pm 1.05	-29.38	\pm 1.19*	-31.44	\pm 1.12
$\delta^{15}N$ (‰)	-0.47	\pm 0.23*	3.56	\pm 0.43	-0.77	\pm 0.37*	4.19	\pm 0.59	0.83	\pm 0.77	2.40	\pm 2.28
Carbohydrates (mg g^{-1})	2131.00	\pm 390.93*	1370.62	\pm 452.137	2867.47	\pm 940.1	2360.79	\pm 803.145	2008.65	\pm 382.38*	1475.25	\pm 504.01
Proline ($\mu\text{g g}^{-1}$)	500.70	\pm 191.43*	447.97	\pm 97.166	873.46	\pm 162.49*	494.57	\pm 107.85	641.12	\pm 171.86	549.07	\pm 158.37
Phenols (mg g^{-1})	5.62	\pm 2.09	4.33	\pm 2.66	9.43	\pm 1.92*	5.18	\pm 1.61	5.15	\pm 3.25*	4.20	\pm 1.97
Flavonoids (mg g^{-1})	3.14	\pm 1.12*	1.71	\pm 0.76	4.36	\pm 0.82	3.95	\pm 0.76	4.40	\pm 1.30	3.30	\pm 1.80

^a YII and F_v/F_m mean values of 8h and 12h analyzes.

4.4.4 Isotopic analysis of $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$

Isotopic analyses of leaves revealed a greater amount of $\delta^{13}\text{C}$ in the restinga for all three species. Isotopes of $\delta^{15}\text{N}$ were greater in the leaves of the forest except for *I. laurina*, which did not differ in $\delta^{15}\text{N}$ between the areas (Table 5). The correlation between $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ was negative in the restinga, while there was no significant correlation in the forest (Figure 4A). Although A and $\delta^{13}\text{C}$ were not significantly correlated, it was possible to observe that species in the restinga had A similar to the forest, but with lower discrimination of $\delta^{13}\text{C}$ (Figure 4B).

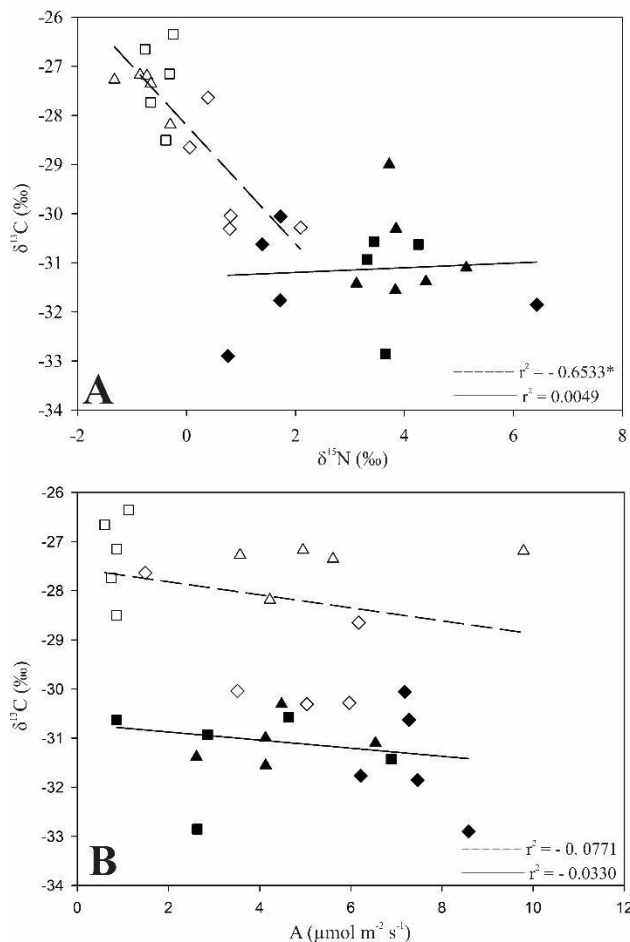


Figure 4. Linear regression between $\delta^{13}\text{C}$ (‰) and $\delta^{15}\text{N}$ (‰). (A); $\delta^{13}\text{C}$ (‰) and A ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (B), for the species *M. obtusifolia* (squares), *M. subsericea* (triangles) and *I. laurina* (diamonds) in restinga (white symbols) and forest (black symbols). The solid line represents the trend line for the forest and the dashed line represents the trend line for the restinga. The r^2 values are given in each graph with asterisk indicating significant correlations ($p \leq 0.05$).

4.4.5 Biochemical analyses

The biochemical analyses revealed a higher concentration of carbohydrates (mg g^{-1}) in leaves of *M. obtusifolia* and *I. laurina* in the restinga, and of proline ($\mu\text{g g}^{-1}$) in the leaves of *M. obtusifolia* and *M. subsericea* also in the restinga (Table 5). The amount of phenols (mg g^{-1}) was greater in leaves of *M. subsericea* and *I. laurina* in the restinga, while the amount of flavonoids (mg g^{-1}) was greater only for leaves of *M. obtusifolia* in the restinga (Table 5).

4.4.6 Phenotypic plasticity and PCA

Phenotypic plasticity was determined for each trait through the relative distance plasticity index (RDPI). The traits that presented higher RDPI values for *M. obtusifolia* were: leaf area (0.46), LSM (0.27), stomatal area (0.34), *YII* (0.33), *A* (0.50), *gs* (0.37), flavonoids (0.30) and ^{15}N (0.76); for *M. subsericea* were: leaf area (0.41), adaxial cuticle (0.29), *YII* (0.28), proline (0.28), phenols (0.29) and ^{15}N (0.69); and for *I. laurina* were: leaf area (0.46), *A* (0.27), *E* (0.34), *gs* (0.57) and ^{15}N (0.48) (Table 6).

The phenotypic integration was determined for each species by the percentage of phenotypic integration (%IF). The highest %IF values were found in *M. obtusifolia* (50.05%), followed by *M. subsericea* (42.30%) and *I. laurina* (23.72%) (Table 7). In addition, the linear regression between RDPI and IF revealed a significant positive relationship for the three species (Figure 5).

Table 6. Relative distance plasticity index (RDPI) for morphological, anatomical, ecophysiological, biochemical and nutritional traits of the species *M. obtusifolia*, *M. subsericea* and *I. laurina* in response to environmental variation between the restinga and forest.

Traits	Species		
	<i>M. obtusifolia</i>	<i>M. subsericea</i>	<i>I. laurina</i>
	RDPI	RDPI	RDPI
Leaf Area	0.46	0.41	0.46
Thickness	0.22	0.13	0.11
Succulence	0.13	0.11	0.12
LSM	0.27	0.15	0.12
Leaf Blade	0.16	0.10	0.12
Palisade	0.24	0.15	0.16
Spongy	0.11	0.05	0.07
Adaxial Ep.	0.17	0.11	0.15
Adaxial Cut.	0.21	0.29	0.12
Abaxial Ep.	0.13	0.10	0.09
Abaxial Cut.	0.23	0.13	0.10
Stomatal Density	0.06	0.05	0.15
Stomatal Length	0.16	0.06	0.07
Stomatal Width	0.19	0.07	0.10
Stomatal Area	0.34	0.16	0.12
<i>Y(II)</i>	0.33	0.28	0.24
<i>F_v/F_m</i>	0.01	0.01	0.03
<i>A</i>	0.50	0.17	0.27
<i>E</i>	0.10	0.17	0.34
<i>g_s</i>	0.37	0.18	0.57
Chlorophyll a	0.16	0.19	0.11
Chlorophyll b	0.21	0.20	0.13
Carotenoids	0.06	0.06	0.22
Chlorophyll a/b	0.05	0.03	0.01
Chlo/Carot.	0.19	0.14	0.15
Carbohydrates	0.23	0.18	0.19
Proline	0.11	0.28	0.09
Phenols	0.19	0.29	0.18
Flavonoids	0.30	0.05	0.17
$\delta^{13}C$	0.07	0.06	0.03
$\delta^{15}N$	0.76	0.69	0.48
N	0.10	0.07	0.03
P	0.08	0.06	0.05
C	0.03	0.01	0.01
C/N	0.08	0.07	0.02

Table 7. Percentage of phenotypic integration (%IF) for morphological, anatomical, ecophysiological, biochemical, and nutritional traits of the species *M. obtusifolia*, *M. subsericea* and *I. laurina* in response to environmental variation between the restinga and forest.

%IF	Species		
	<i>M. obtusifolia</i>	<i>M. subsericea</i>	<i>I. laurina</i>
	50.05%	42.30%	23.72%

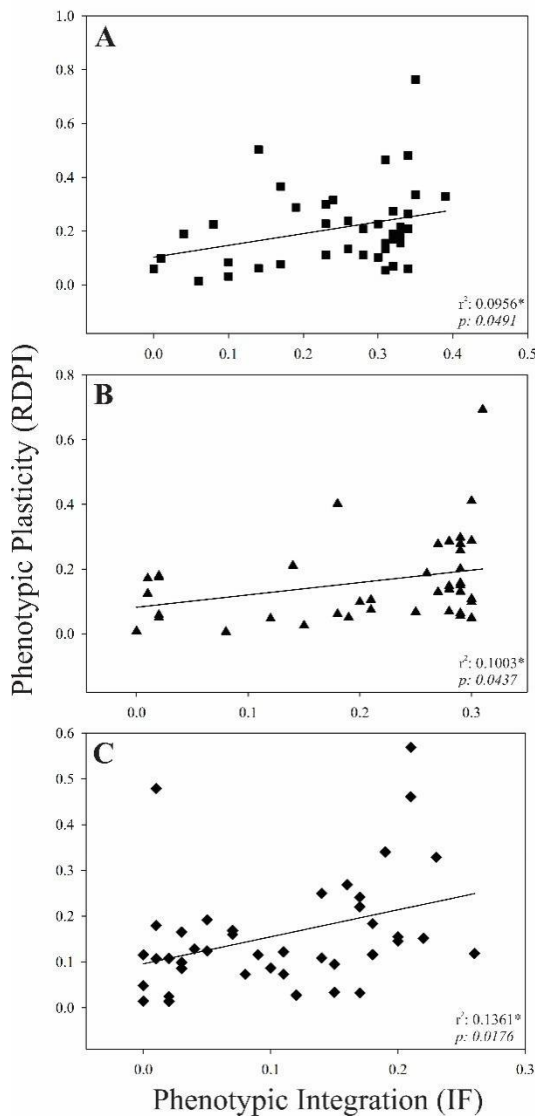


Figure 5. Linear regression between the relative distance plasticity index (RDPI) and phenotypic integration (IF) between functionally correlated characteristics for the species *M. obtusifolia* (A – squares), *M. subsericea* (B – triangles) and *I. laurina* (C – diamonds). The r^2 values are given in each graph with asterisk indicating significant correlations ($p \leq 0.05$).

The principal components analysis (PCA) explained 81 % of the total variation in the dataset, with 56.80% by the first principal component (PC1), and 24.20% by the second (PC2) (Figure 6). PC1 was influenced by the thickness (Thic), succulence (Suc), leaf specific mass (LSM), leaf blade (LB), spongy parenchyma (Spon), adaxial cuticle (Adc), ^{13}C , ^{15}N , and *YII*. PC2 was influenced by stomatal density (SD), stomatal length

(SL), stomatal area (SA) chlorophyll *a/b* ratio (Chlo *a/b*), and chlorophyll/carotenoids ratio (Chlo/Car). These traits allowed the separation of two groups according to the environmental differences between the restinga and forest (Figure 6).

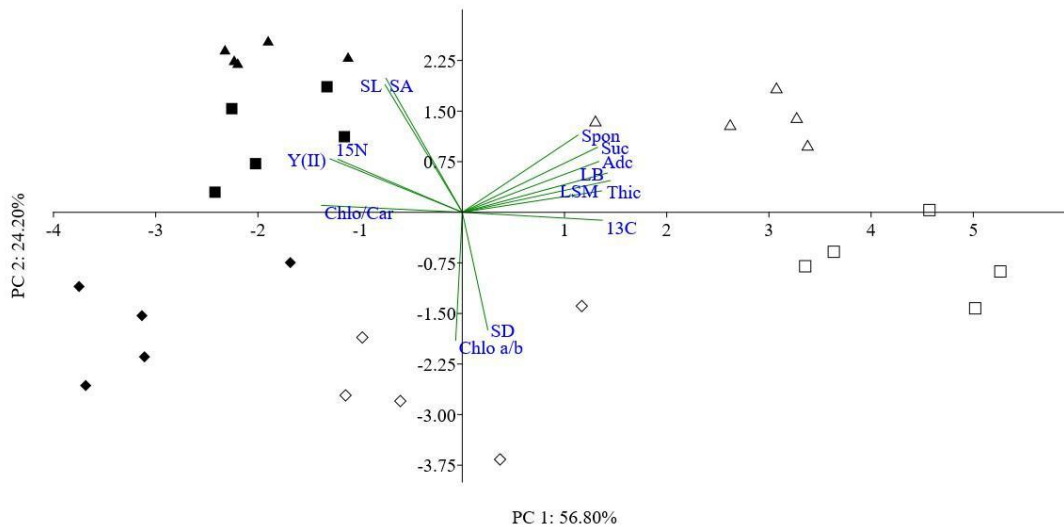


Figure 6. Principal components analysis (PCA) for the species *M. obtusifolia* – squares, *M. subsericea* – triangles and *I. laurina* – diamonds, in restinga (white symbols) and forest (black symbols). Thic – thickness; Suc- succulence; LSM – leaf specific mass; LB – leaf blade; Spon – spongy parenchyma; Adc – adaxial cuticle; ^{13}C – carbon isotope; ^{15}N – nitrogen isotope; *YII* – quantum yield of PSII; SD – stomatal density; SL – stomatal length; SA – stomatal area; Chlo *a/b* – chlorophyll *a/b* ratio; Chlo/Car – chlorophyll/carotenoids ratio (Chlo/Car).

4.5 Discussion

The three species studied presented higher THIC of the leaves in the restinga in relation to forest. The greater THIC is a direct reflection of the greater thickening of mesophylic photosynthetic cells layers and epidermis (Oguchi et al., 2005; Rabelo et al., 2013; Vieira et al., 2015). The results found are in agreement with the above relationship since the species in the restinga presented greater thickening of the palisade and spongy parenchyma and the adaxial and abaxial epidermis. Some authors have highlighted that the greater THIC of the leaves is the result of the greater thickening and/or organization of the palisade parenchyma in more than one cell layer (Paiva et al., 2003; Campbell et al., 2018). This can be confirmed by the present work by the higher values for the palisade/spongy ratio for three species in the restinga. The greater thickening of the

palisade parenchyma in the restinga is related to the higher irradiances found in this environment. In environments with greater light availability, the palisade parenchyma tends to be thicker to allow more equitable distribution of light occur by mesophyll (Volgemann and Martin, 1993), aiding to dissipate excess light in the form of heat (Gates, 1980). In addition, the high THIC leaf invests in more succulent leaves (SUC), with greater capacity of water storage in the foliar tissues, contributing to a more water use efficiency in dry periods (Lamont and Lamont, 2000; Grubb et al., 2015). In this sense, the highest SUC values in the leaves of the three species in the restinga are related to the conditions of low water availability in this environment.

In relation to leaf specific mass (LSM) only *M. obtusifolia* and *M. subsericea* presented significant differences between the studied areas, being the highest values found in the restinga. The LSM reflects the relative accumulation of carbon in leaves (Eamus et al., 1999), and represents the targeting of carbon skeletons for the construction of cell walls and membranes (Villar and Merino, 2001). Consequently, high LSM reflects the formation of thicker leaf tissue including thicker palisade and spongy parenchyma, (John et al., 2017; Oliveira et al., 2018). This explains the positive correlations between LSM and thicker palisade and spongy parenchyma in restinga. In this sense, the results found for LSM showed that the species *M. obtusifolia* and *M. subsericea* in the restinga had a higher carbon expense in the leaf construction.

The positive correlation between C/N ratio and LSM is another indication that these species in the restinga expend more carbon in leaf construction (Witkowski and Lamont, 1991; Niinemets, 2001). Greater values of C/N represent a greater amount of carbon in relation to leaf nitrogen (Witkowski and Lamont, 1991). In sense, plants in xeric environments to invest in the construction of thicker and/or scleromorphic leaves (John et al., 2017). Additionally, the negative correlation between N and P and LSM in the restinga reinforces the scleromorphic character of the leaves of *M. obtusifolia* and *M. subsericea*. Xeric environments, as the restinga, present lower availability of N and P, due to lower cycling of these nutrients (Golluscio et al., 2014).

Differently from what was observed for the other species, *I. laurina* not presented significant difference for LSM between the restinga and forest. This demonstrates that the carbon expende during the construction of the *I. laurina* leaves between the two study areas is similar. Thus, the greatest THIC of the leaves of *I. laurina* in the restinga, is not the result of the greater carbon directivity for the construction of foliar tissues (Villar and Merino, 2001), but of cell expansion processes (see in Ref [Pireda et al., *in press*]). In

addition, *I. laurina* presents a higher hydraulic conductivity in relation to the other species studied (data not shown), which favors a greater water supply in the leaves. In this sense, *I. laurina* would not need to invest in the construction of additional leaf tissues to act as an alternating water reservoir (John et al., 2017; Oliveira et al., 2018).

The greater thickening of the epidermis and cuticle, as well as the greater ornamentation of the epicuticular wax, may also contribute to protecting plants against high irradiance (Rôças et al., 2001). These characteristics help in the reflection of excess irradiance, thus preventing leaf heating and avoiding the loss of water by evapotranspiration (Vogelmann, 1993). These characteristics also increase the reflection surface, that contributes to scattering light, thus preventing overheating of the protoplast (Brakke et al., 1993).

The increased quantity of veins, especially quaternary calibers, in the three species in the restinga, is a strategy for more efficient distribution of water by the leaf (Zang et al., 2018). In addition, smaller caliber veins tend to decrease chances of embolism (Scoffoni and Jansen, 2016) and contribute to the maintenance of the hydraulic conductivity of leaves (Sack and Holbrook, 2006). An increase in the amount of veins in xeric environments is important to ensure that stomata receive enough water for opening and closing processes to occur properly (Murphy et al., 2016 and 2017). In addition, harm does not come to the photosynthetic performance of plants (Adams et al., 2018).

Through the gas exchange analysis, was possible to observe that the *M. obtusifolia* and *M. subsericea* not present differences in daily assimilation of CO₂ ($A \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) between restinga and forest. This similarity in the assimilation of CO₂ between the restinga and forest for two species, is due to higher *A* values in the restinga at 8h, when compared the *A* values in the forest (see in Ref [Pireda et al., *in press*]). On the other hand, *I. laurina* was the only species that presented a reduction in the assimilation of CO₂ in restinga. However, the reduction in *A* to *I. laurina* in the restinga does not denote lower photosynthetic performance of the species, since the values of *A* are similar to those of *M. obtusifolia* and *M. subsericea*, in both environments. These results show that the *I. laurina* in environments with higher water availability, as the forest, tend to have a better ability to assimilate CO₂. This may be related to the fact that *I. laurina* presents a higher hydraulic conductivity, which is shown by the higher values of stomatal conductance ($g_s \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). According to Santiago et al. (2004), higher hydraulic conductivity promotes greater stomatal conductance and consequently higher CO₂ gain.

The reduction of the g_s values in the restinga reflects a strategy to restrict water loss to transpiration ($E \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). As the restingas are environments with lower water availability, high temperatures, irradiance, and VPD. The plants in this condition tend to reduce stomatal conductance to restrict the loss of water by transpiration ($E \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) (Flexas et al., 2012; Zhou et al., 2013; Galmés et al., 2014; Vitória et al., 2016). This explains the lower g_s and E values in the restingas for *M. obtusifolia* and *I. laurina*. However, *M. subsericea* did not show differences in the transpiration rate ($E \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) between the restinga and forest. Thus, it is possible to affirm that *M. subsericea* has an additional mechanism to avoid the loss of water, which is independent of the environment. The present work demonstrated that the stomatal of *M. subsericea* are below of the epicuticular wax layer, constituting a barrier that will prevent the loss of water to the environment (Fernández et al., 2017; Joubès and Domergue, 2018).

The density and area of the stomatal can influence the stomatal conductance (g_s) and transpiration rate (E) of species in restinga. Other studies have shown that in xeric environments, the plants tend to decrease the size of stomata to obtain faster responses of stomatal opening and closure to minimize water loss through evapotranspiration (McAusland et al., 2016; Vialet-Chabrandet et al., 2017). In contrast, these plants increase stomatal density so as not to compromise CO₂ uptake (Woodward et al., 2002; Lawson and Blatt, 2014; Engineer et al., 2016). It has been shown that adjustments in the size and density of stomata in plants of xeric environments, such as restinga, represents a form of maintenance of photosynthetic performance linked to a more efficient use of water (Lawson and Blatt, 2014; Franks et al., 2015; Liu et al., 2018).

Isotopic analysis of $\delta^{13}\text{C}$ was performed to evaluate water use efficiency (WUE), of the species studied between the restinga and forest. The results demonstrated that all species in the restinga showed greater $\delta^{13}\text{C}$ signs on the leaves. The higher $\delta^{13}\text{C}$ signs in the restinga are related to lower water availability and high irradiances found in this environment. The plants under conditions of the water and light stress tend to close the stomata to reduce water loss, and therefore begin to present limitations in CO₂ uptake (Keenan et al., 2013, Vitória et al., 2016, Peters et al., 2018). In the case of stresses that limit CO₂ uptake, Rubisco reduces the discrimination by $\delta^{13}\text{C}$ and incorporates it into the carbonic structures of leaves (Farquhar et al., 1982; Martinelli et al., 2009). Thus, the greatest $\delta^{13}\text{C}$ signals found in the leaves of the species in the restinga may be related to the lower stomatal conductance ($g_s \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) found in the restinga. In this sense, it is possible to affirm that the species in the restinga has a better WUE in relation to the forest.

The lower values of $\delta^{15}N$ in the leaves of *M. obtusifolia* and *M. subsericea* in the restinga are related to unfavorable conditions for cycling and low litter production (Craine et al., 2015; Nguyen et al., 2018). Lower values of $\delta^{15}N$ have been related to lower amounts of N in the environment (Martinelli et al., 1999; Bai et al., 2009), corroborating with the amount of N found to the soil and leaves in the restinga plants (see Table 2 and 3 in Ref [Pireda et al., *in press*]). It is possible that *I. laurina* avoided this N deficiency in the restinga by an association with endophytic bacteria that more readily make N available to the plant (Gyaneshwar et al., 2011). In addition, studies have shown that isotopic signals of $\delta^{15}N$ tend to be lower in areas with low water availability and high irradiance (Teixeira et al., 2018; Vitória et al., 2018), which differs from what is normally found for $\delta^{13}C$. This, therefore, explains the negative correlation between $\delta^{13}C$ and $\delta^{15}N$ for the species in the restinga.

Analysis of chlorophyll *a* fluorescence emission of leaves revealed that the quantum yield of PSII (*YII*) was significantly lower in the restinga for all species. *YII* represents the amount of light absorbed by chlorophyll molecules associated with PSII and directed to photochemical processes (Genty, 1989; Maxwell and Johnson, 2000). The amount of chlorophyll *a* and *b* in the leaves of the species were significantly lower in the restinga than when in the forest, explaining the lower *YII* values in the restinga for *M. obtusifolia* and *M. subsericea*. In addition, plants submitted to conditions of low water availability and high temperatures tend to have lower *YII* values (Zhou et al., 2017; Dias et al., 2018). This explains why the lower *YII* values for all species. The maximum quantum yield of PSII (F_v/F_m) indicates the number of open PSII reaction centers (Maxwell and Johnson, 2000). According to Bolh ar-Nordenkamp et al. (1989), values below 0.75 are indicative of PSII malfunction and may represent conditions of photoinhibition. The *M. obtusifolia* and *M. subsericea* species did not have values suggestive of conditions of photochemical stress in both areas. However, *I. laurina* had a mean value of $F_v/F_m = 0.73$ in the restinga. Although these values indicate photoinhibition conditions, it is not possible to affirm that *I. laurina* is undergoing photoinhibition. This can be confirmed since the reduction of the quantum yield of PSII did not compromise

the assimilation of CO₂ ($A \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (Genty, 1989).

Biochemical analyses revealed that in the restinga the species invested in the biosynthesis of molecules such as proline and carbohydrate. Most of the accumulation of proline and carbohydrate in plants occurs mainly under conditions of water shortage (Pizard et al., 2011; Rejeb et al., 2014) since these molecules function as cellular

osmoregulators, avoiding cell plasmolysis (Kameli and Lösel, 1995; Sánchez et al., 1998). In addition, a higher amount of phenols and flavonoid substances in leaves of plants in the restinga represents a strategy to tolerance the conditions of higher irradiance (Pérez-López et al., 2018; Taulavuori et al., 2016). These substances have a photoprotective role and act to protect the protoplast against damage caused by UV-B radiation (Schreine et al., 2014; Julkunen-Tiitto et al., 2015).

The RDPI varies from 0 to 1, where values close to 1 indicate high plasticity for functional traits (Valladares et al., 2006). The results revealed that most of the functional traits that had higher values of RDPI were directly related to the variations in water availability and irradiance between the restinga and forest. Traits such as LSM, stomatal area, *g_s*, adaxial cuticle, proline, and *E* are related to mechanisms of restriction of water loss and osmotic control of cells. The leaf area, flavonoids and phenols are trait more related to photoprotection of the plant. Finally, *A* and *YIII* represent adjustments in photosynthetic machinery in response to contrasting irradiance. The highest RDPI values for the above mentioned traits is a result of the greater distance between the mean values of these variables between the restinga and forest (Valladares et al., 2006). Thus, the greater distance between the mean values of the analyzed traits represent a greater adjustment of these traits to favor co-occurrence of the species in the restinga and forest.

In addition, the principal components analysis (PCA) show that the traits that helped to separate the two groups between the restinga and forest, were related to contrasting conditions of water availability and irradiance. This confirms that water and irradiance are the main environmental variables that induce phenotypic adjustments in co-current species in the restinga and forest.

Percentage of phenotypic integration (%IF) represents the functional correlation between different plant traits (Pigliucci, 2003; Pigliucci and Preston, 2004). According to Gianoli (2004), greater phenotypic integration may provide a better adaptive response of plants when subjected to contrasting environmental conditions. The results showed that the species with the highest %IF was *M. obtusifolia* (% IF = 50.05%), followed by *M. subsericea* (% IF = 42.30%) and *I. laurina* (% IF = 23.72%). The highest %IF values found for *M. obtusifolia* and *M. subsericea* suggest that these species invested in a greater integration of their functional traits, to support the contrasting environmental conditions between the restinga and the forest. On the other hand, *I. laurina* was the species that presented the lowest phenotypic integration. The lower IF values in *I. laurina* may reflect greater balance between plasticity and phenotypic integration. This can be confirmed by

the stronger positive correlations between RDPI and IF for *I. laurina* compared to the other species.

Phenotypic integration may increase species survival and reduce the expression cost of the maladaptive and/or nonadaptive traits (Poot and Lambers, 2008). In this sense, some authors have demonstrated a negative relationship between plasticity and integration phenotypic (Gianoli, 2004; Gianoli and Palacio-López, 2009). However, the present study demonstrated positively related between RDPI and IF. According to Gianoli and Palacio-López (2009), the positive relationship to IF and RDPI may be related to the combination of traits of different organizational levels (morpho-anatomical, physiological, nutritional and biochemical), that present different plasticity dynamics. Godoy et al. (2012) emphasizes that the plasticity and integration phenotypic can favor the plant fitness. In this sense, it is possible to affirm that both %IF and RDPI have acted in synergism during the process of acclimatization of the studied species.

4.6 Conclusion

For species to tolerance the contrasting environmental conditions of the restinga and forest, and thus co-occur in both, they need to adjust and integrate their functional traits at different organization levels (morpho-anatomical, physiological, nutritional and biochemical). Therefore, so that the species present a good adaptability in the restingas, it was necessary to adjust traits related mainly to water restriction and storage (*e.g.*, more succulent leaves, thicker cuticles, smaller and larger stomates), osmotic control of cells (*e.g.*, greater amounts of proline and carbohydrates), improved water use efficiency (*e.g.*, smaller g_s and greater $\delta^{13}C$ signals), and strategies that favor photoprotection (*e.g.*, thicker palisade, lower chlorophyll/carotenoids ratio and higher amount of phenols and flavonoids). Although all species are acclimated to both environments, it was possible to conclude that *I. laurina* presents responses patterns that differ from those found for *M. obtusifolia* and *M. subsericea*. The present work concluded that the specific responses of *I. laurina* were related to their higher hydraulic conductivity, which was confirmed by the higher values of g_s . In addition, it was possible to conclude that the success of the species in the consolidation of the restinga vegetation is directly related to their capacity to tolerance the low water availability and high irradiance in restinga. In this sense, we conclude that the maintenance of the performance of the species in the restinga and forest is dependent on the adjustments and/or integration of the leaves functional traits. Thus, prior and detailed identification of function characteristics can increase the probability of

success in ecological restoration actions and in the reestablishment of ecological and edaphic processes in order to obtain adequate provision of ecosystem services.

Acknowledgments: This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); and Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio de Janeiro (FAPERJ); Centro Multiusuário CME-LBCT the infrastructure provided; B. F. Ribeiro for technical work in laboratory of LBCT/CBB/UENF. This study is a part of the PhD. degree thesis of S. P. carried out at the UENF.

4.7 Reference

- Abreu, K.M.P., Braga, J.M.A., Nascimento, M.T., 2014. Tree species diversity of coast allow land semideciduous forest fragments in northern Rio de Janeiro state, Brazil. *Biosc. J.* 30, 1529-1550.
- Adams, W.W., Stewart, J.J., Polutchko, S.K., Demmig-Adams, B., 2018. Leaf Vasculature and the Upper Limit of Photosynthesis in the leaf: A Platform for Performing Photosynthesis. Springer, Cham.
- Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., de Moraes, G., Leonardo, J., Sparovek, G., 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol. Z.* 22, 711-728.
- Andrade, M.A.B., 1967. Contribuição ao conhecimento da ecologia das plantas das dunas do litoral do estado de São Paulo. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Botânica.* 22, 3-170.
- Araujo, D.S.D., Oliveira, R., 1988. Reserva Biológica Estadual da Praia do Sul (Ilha Grande, Estado do Rio de Janeiro): lista preliminar da flora. *Acta Bot. Bras.* 1, 83-94.
- Araujo, D.S.D., 2000. *Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras*. Publicado por: NUPEM/UFRJ Macaé, RJ.
- Assumpção, J.A.N., Nascimento, M.T., 2000. Estrutura e composição florística de quatro formações vegetais de restinga no Complexo Lagunar Grussaí/Iquipari, São João da Barra, RJ, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 14, 301-315.
- Bai, E., Boutton, T.W., Liu, F., Wu, X.B., Archer, S.R., Hallmark, C.T., 2009. Spatial variation of the stable nitrogen isotope ratio of woody plants along a topo edaphic gradient in a subtropical savanna. *Oecologia.* 159, 493-503.
- Bates, L.S., Waldern, R.P., Tare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil.* 39, 205-207
- Bolhàr-Nordenkampf, 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.
- Brakke, T.W., Wergin, W.P., Erbe, E.F., Harnden, J.M., 1993. Seasonal Variation in the Structure and Red Reflectance of Leaves from Yellow Poplar, Red Oak, and Red Maple. *Remote Sens. Environ.* 43,115-130.
- 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.
- Chazdon, R.L., Pearcy, R.W., 1991. The importance of sunflecks for forest understory plants. *Biosci.* 41, 760-766.
- Craine, J.M., Brookshire, E.N.J., Cramer, M.D., Hasselquist, N.J., Koba, K., Marin-Spiotta, E., Wang, L., 2015. Ecological interpretations of nitrogen isotope ratios of terrestrial plants and soils. *Plant Soil.* 396, 1-26.
- 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.
- Dias, M.C., Correia, S., Serôdio, J., Silva, A.M.S., Freitas, H., Santos, C., 2018. Chlorophyll fluorescence and oxidative stress endpoints to discriminate olive cultivars tolerance to drought and heat episodes. *Sci. Hortic.* 231, 31-35.

- Eamus, D., Myers, B., Duff, G., Williams, R., 1999. A cost benefit analysis of leaves of eight Australian savana species of differing leaf life-span. *Photosynthetica*. 36, 575–586.
- Embrapa, 1997. Manual de métodos de análise de solo / Centro Nacional de Pesquisa de Solos, second ed. Rio de Janeiro, Brazil.
- Embrapa, 2000. Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos. Rio de Janeiro, Brazil. Engineer, C.B., Hashimoto-Sugimoto, M., Negi, J., Israelsson-Nordström, M., Azoulay-Shemer, T., Rappel, W.J., Iba, K., Schroeder, J.I., 2016. CO₂ sensing and CO₂ regulation of stomatal conductance: advances and open questions. *Trends Plant Sci*. 21, 16–30.
- Falkenberg, D.B., 1999. Aspectos da flora e da vegetação secundária da restinga de Santa Catarina, sul do Brasil. *INSULA Rev. Bot.* 28, 1–30.
- Farquhar, G., O’Leary, M., Berry, J., 1982. On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* 9, 121–137.
- Fernández, V., Bahamonde, H.A., Peguero-Pina, J.J., Gil-Peigrín, E., Sancho-Knapik, D., Gil, L., Goldbach, H.E., Eichert, T., 2017. Physico-chemical properties of plant cuticles and their functional and ecological significance. *J. Exp. Bot.* 68, 5293–5306.
- Flexas, J., Barbour, M.M., Brendel, O., Cabrera, H.M., Carriquí, M., Diaz-Espejo, A., Gallé, A., 2012. Mesophyll diffusion conductance to CO₂: an unappreciated central player in photosynthesis. *Plant Sci*. 193, 70–84.
- 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.
- Franks, P.J., Doheny-Adams, T.W., Britton-Harper, Z. J., Gray, J.E., 2015. Increasing water-use efficiency directly through genetic manipulation of stomatal density. *New Phytol.* 207, 188–195.
- Freire, M.S.B., 1990. Levantamento florístico do Parque Estadual das Dunas de Natal. *Acta Bot. Bras.* 4, 41–59.
- 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.
- Fundação SOS Mata Atlântica, 2018. <https://www.sosma.org.br/projeto/atlas-da-mata-atlantica/> (accessed 17 december 2018).
- Galmés, J., Andralojc, P.J., Kapralov, M.V., Flexas, J., Keys, A.J., Molins, A., Parry, M.A.J., Conesa, M.Á., 2014. Environmentally driven evolution of Rubisco and improved photosynthesis and growth within the C3 genus *Limonium* (Plumbaginaceae). *New Phytol.* 203, 989–999.
- Gates, D.M., 1980. *Biophysical ecology*. Springer-Verlag, New York, USA, Heidelberg, Berlin, Germany, p 611.
- 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.
- Gianoli, E., 2004. Plasticity of traits and correlations in two populations of *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae) differing in environmental heterogeneity. *Int. J. Plant Sci.* 165, 825–832.
- Gianoli, E., Palacio-López, K., 2009. Phenotypic integration may constrain phenotypic plasticity in plants. *Oikos*. 118, 1924–1928.
- 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.
- Golluscio, R.A., Irueta, R., Cipriotti, P.A., 2014. The elusive quantification of nitrogen fixation in xeric shrubs: The case of *Adesmia volckmannii*, a Patagonian leguminous shrub. *J. Arid Environ.* 111, 22–26.
- 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 south-eastern Spain. *J. Arid Environ.* 118, 69–83.
- Gyaneshwar, P., Hirsch, A.M., Moulin, L., Chen, W.M., Elliott, G.N., Bontemps, C., Santos, P.E., Gross, E., Reis, F.B., Sprent, J.I., Young, J.P.W., James, E.K., 2011. Legume-nodulating beta proteobacteria: diversity, host range, and future prospects. *Mol. Plant Microbe Interact.* 24, 1276–1288.
- Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D., 2001. *PAST: Paleontological Statistics*.
- Hay, J.D., Henriques, R.P.B., Lima, D.M., 1981. Quantitative comparisons of dune and foredune vegetation in restinga ecosystems in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Bras. Biol.* 41, 55–662.
- Hollander, M., Wolfe, D.A., 1973. *Nonparametric statistical methods*, New York: John Wiley & Sons, Inc.
- INEA (Instituto Estadual do Ambiente), 2019. Dados do monitoramento da qualidade do ar e meteorologia. <http://www.inea.rj.gov.br/ar-agua-e-solo/monitoramento-da-qualidade-do-ar-e-meteorologia/> (accessed 13 march 2019)
- INEA (Instituto Estadual do Ambiente), 2011. Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba. <http://www.inea.rj.gov.br/unidades/eeguaxindiba.asp> (accessed 28 august 2011).

- 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.
- Johansen, D.A., 1940. *Plant microtechnique*. New York, McGraw-Hill Book Co. Inc., 523p.
- Joly, C.A., Leitão Filho, H.F., Silva, S.M., 1991. O patrimônio florístico. In *Mata Atlântica* (I.G. Câmara, coord.). Index/Fundação SOS Mata Atlântica, São Paulo, pp. 97–125.
- Joubès, J., Domergue, F., 2018. Biosynthesis of the Plant Cuticle. *Hydrocarbons, Oil sand Lipids: Diversity, Origin, Chemistry and Fate*, 1–19.
- Julkunen-Tiitto, R., Nenadis, N., Neugart, S., Robson, M., Agati, G., Vepsäläinen, J., Jansen, M.A., 2015. Assessing the response of plant flavonoids to UV radiation: an overview of appropriate techniques. *Phytochem. Rev.* 14, 273–297.
- Kameli, A., Lösel, D.M., 1995. Contribution of carbohydrates and other solutes to osmotic adjustment in wheat leaves under water stress. *J. Plant Physiol.* 145, 363–366.
- Karnovsky, M.J., 1965. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron-microscopy. *J Cell Biol.* 27, 137–138A.
- Keenan, T.F., Hollinger, D.Y., Bohrer, G., Dragoni, D., Munger, J.W., Schmid, H.P., Richardson, A.D., 2013. Increase in forest water-use efficiency as atmospheric carbon dioxide concentrations rise. *Nature.* 499, 324.
- Kluge, M., Ting, I.P., 1978. *Crassulacean acid metabolism: Analysis of an ecological adaptation*. Berlin, Springer-Verlag.
- Krizek, D.T., Britz, S.J., Mirecki, R.M., 1998. Inhibitory effect of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New red fire lettuce. *Physiol Plant.* 103, 1–7.
- Lamont, B., Lamont, H., 2000. Utilizable water in leaves of 8 arid species as derived from pressure-volume curves and chlorophyll fluorescence. *Physiol. Plant.* 110, 64–71.
- Lande, R., 2015. Evolution of phenotypic plasticity in colonizing species. *Mol. Ecol.* 24, 2038–2045.
- Lawson, T., Blatt, M.R., 2014. Stomatal size, speed, and responsiveness impact on photosynthesis and water use efficiency. *Plant Physiol.* 164, 1556–1570.
- Liu, C., He, N., Zhang, J., Li, Y., Wang, Q., Sack, L., Yu, G., 2018. Variation of stomatal traits from cold temperate to tropical forests and association with water use efficiency. *Funct. Ecol.* 32, 20–28.
- Ludwig, J.A., Reynolds, J.F., 1988. *Statistical ecology a primer on method and computing*. John Wiley and Sons, New York.
- Mau, A.C., Reed, S.C., Wood, T.E., Cavaleri, M.A., 2018. Temperate and tropical forest canopies are already functioning beyond their thermal thresholds for photosynthesis. *Forests.* 9, 47.
- Martinelli, L.A., Piccolo, M.C., Townsend, A.R., Vitousek, P.M., Cuevas, E., McDowell, W., Robertson, G.P., Santos, O.C., Treseder, K., 1999. Nitrogen stable isotopic composition of leaves and soil: tropical versus temperate forests. *Biogeochemistry.* 46, 45–65.
- Martinelli, L.A., Ometto, J.P.H.B., Ferraz, E.S., Victoria, R.L., Camargo, P.B., Moreira, M.Z., 2009. *Desvendando Questões Ambientais Com Isótopos Estáveis*. Oficina de Textos, São Paulo.
- Maxwell, K., Johnson, G.N., 2000. Chlorophyll Fluorescence – a practical guide. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* 42, 313–49.
- McAusland, L., Viallet-Chabrand, S., Davey, P., Baker, N.R., Brendel, O., Lawson, T., 2016. Effects of kinetics of light-induced stomatal responses on photosynthesis and water-use efficiency. *New Phytol.* 211, 1209–1220.
- Merilä, J., Hendry, A.P., 2014. Climate change, adaptation, and phenotypic plasticity: the problem and the evidence. *Evol. Appl.* 7, 1–14.
- Murphy, C.M.R., Jordan, G.J., Brodribb, T.J., 2016. Cell expansion not cell differentiation predominantly coordinates veins and stomata within and among herbs and woody angiosperms grown under sun and shade. *Ann. Bot.* 118, 1127–1138.
- Murphy, M.R.C., Dow, G.J., Jordan, G.J., Brodribb, T.J., 2017. Vein density is independent of epidermal cell size in *Arabidopsis* mutants. *Funct. Plant Biol.* 44, 410–418.
- Niinemets, Ü., 2001. Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area density, and thickness in trees and shrubs. *Ecol.* 82, 453–469.
- Nguyen, M.L., Luo, J., Quin, B.F., 2018. Isotopes to investigate soil nitrogen transformations and cycling in agricultural systems. in Rattan, L., Stewart B.A. (Eds.), *Soil nitrogen uses and environmental impacts*, CRC Press., New Yourk, pp. 34–72.
- Oguchi, R., Hikosaka, K., Hirose, T., 2005. Leaf anatomy as a constraint for photosynthetic acclimation: differential responses in leaf anatomy to increasing growth irradiance among three deciduous trees. *Plant, Cell Environ.* 28, 916–927.
- 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.

- Paiva, É.A.S., Isaias, R.M.D.S., Vale, F.H.A., Queiroz, C.G.D.S., 2003. The influence of light intensity on anatomical structure and pigment contents of *Tradescantia pallida* (Rose) Hunt. cv. purpurea Boom (Commelinaceae) leaves. *Braz. Arch. of Biol. Technol.* 46, 617–624.
- Pérez-López, U., Sgherri, C., Miranda-Apodaca, J., Micaelli, F., Lacuesta, M., Mena-Petite, A., Muñoz-Rueda, A., 2018. Concentration of phenolic compounds is increased in lettuce grown under high light intensity and elevated CO₂. *Plant Physiol. Biochem.* 123, 233–241.
- Peters, W., van der Velde, I.R., Van Schaik, E., Miller, J.B., Ciais, P., Duarte, H.F., Vidale, P.L., 2018. Increased water-use efficiency and reduced CO₂ uptake by plants during drought at a continental scale. *Nature Geosci.* 11, 744.
- Pigliucci, M., 2003. Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. *Ecol. Lett.* 6, 265–272.
- Pigliucci, M., Preston, K., 2004. Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. Oxford University Press.
- Pireda, S., Oliveira, D.S., Borges, L.B., Ferreira, G.A., Barroso, L.M., Simioni, P., Vitória, A.P., Maura Da Cunha, M. *in press*. Leaf structural, physiological and nutritional characteristics of species co-occurring in restinga and semideciduous seasonal forest ecosystems. Data in Brief.
- Pirzad, A., Shakiba, M.R., Zehtab-Salmasi, S., Mohammadi, S.A., Darvishzadeh, R., Samadi, A., 2011. Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L. *J. Med. Plants Res.* 5, 2483–2488.
- Poot, P., Lambers, H., 2008. Shallow-soil endemics: adaptive advantages and constraints of a specialized root-system morphology. *New Phytol.* 178, 371–381.
- Rabelo, R.G., Vitória, A.P., Da Silva, M.V.A., Cruz, R.A., Pinho, E.I.B., Ribeiro, D.R., Freitas, A.V., Da Cunha, M., 2013. Structural and ecophysiological adaptations to forest gaps. *Trees* 27, 259–272.
- Radambrasil, 1983. Rio de Janeiro/Vitória; Geologia, Geomorfologia, Pedologia, Vegetação e Uso Potencial da Terra - SF. 23/24. Projeto RADAMBRASIL, Rio de Janeiro.
- Rejeb, K.B., Abdelly, C., Saviouré, A., 2014. How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant. Physiol. Biochem.* 80, 278–284.
- Rizzini, C.T., 1976. Tratado de Fitogeografia do Brasil. v.1. Edusp/Hucitec, São Paulo.
- Robyt, I.F., White, J.B., 1987. Biochemical Techniques: Theory and Practice. Monterey: Brooks and Cole Publishing Co.
- Rôças, G., Scarano, F.R., Barros, C.F., 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.
- Sack, L., Holbrook, N.M., 2006. Leaf hydraulics. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 361–381.
- Sánchez, F.J., Manzanares, M., de Andres, E.F., Tenorio, J.L., Ayerbe, L., 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crop. Res.* 59, 225–235.
- Santiago, L.S., Goldstein, G., Meinzer, F.C., Fisher, J.B., Machado, K., Woodruff, D., Jones, T., 2004. Leaf photosynthetic traits scale with hydraulic conductivity and wood density in Panamanian forest canopy trees. *Oecologia.* 140, 543–550.
- Scarano, F.R., 2002. Structure, Function and Floristic Relationships of Plant Communities in Stressful Habitats Marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. *Ann. Bot.* 90, 517–524.
- Scherer-Lorenzen, M., 2015. Forest ecology: Conservation through closure. *Nature Plants.* 1, 15116.
- 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.
- Schreiner, M., Martínez-Abaigar, J., Glaab, J., Jansen, M., 2014. UV-B Induced secondary plant metabolites: potential benefits for plant and human health. *Optik & Photonik*, 9, 34–37.
- Scoffoni, C., Jansen, S., 2016. I can see clearly now—embolism in leaves. *Trends Plant Sci.* 21, 723–725.
- Shapiro, S.S., Wilk, M.B., 1965. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). *Biometrika.* 52, 591–611.
- Sloboda, B., Marques, R., Bianchin, J., Blum, H., Donha, C., Silveira, F., Capretz, R., 2017. Litterfall and nutrient dynamics in a mature Atlantic Rain forest in Brazil. *Floram*, 24.
- Soland, S.F., Laima, S.K., 1999. Phenolic sand cold tolerance of *Brassica napus*. *Plant Agric.* 1, 1–5.
- Statsoft (1993) Statistica: Statsoft for windows: General conventions and statistics I. User's Handbook. Tulsa, Microsoft Corporation.
- Sultan, S.E., 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Sci.* 5, 537–542.

- Sultan, S.E., 2004. Promising directions in plant phenotypic plasticity. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 6, 227–233.
- Tang, H., Dubayah, R., 2017. Light-driven growth in Amazon evergreen forests explained by seasonal variations of vertical canopy structure. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 114, 2640–2644.
- Taulavuori, K., Hyöky, V., Oksanen, J., Taulavuori, E., Julkunen-Tiitto, R., 2016. Species-specific differences in synthesis of flavonoids and phenolic acids under increasing periods of enhanced blue light. *Environ. Exp. Bot.* 121, 145–150.
- Teixeira, M.C., Trindade, F.G., Da Cunha, M., Rezende, C.E., Vitória, A.P., 2018. Ultrastructural and functional chloroplast changes promoting photoacclimation after forest management in a tropical secondary forest. *Forest. Ecol. Manag.* 428, 27–34.
- Valentin-Silva, A., Staggemeier, V., Batalha, M.A., Guimarães, E., 2018. What factors can influence the reproductive phenology of Neotropical *Piper* species (Piperaceae) in a semideciduous seasonal forest? *Botany.* 96, 675–684.
- 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. *Ecol.* 81, 1925–1936.
- 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.
- Valladares, F., Gianoli, E., Gómez, J.M., 2007. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytol.* 176, 749–763.
- Valladares, F., Matesanz, S., Guilhaumon, F., Araújo, M.B., Balaguer, L., Benito-Garzón, M., Cornwell, W., Gianoli, E., van Kleunen, M., Naya, D.E., Nicotra, A.B., Poorter, H., Zavala, M.A., 2014. The effects of phenotypic plasticity and local adaptation on forecasts of species range shifts under climate change. *Ecol. Lett.* 17, 1351–1364.
- Van Kooten, O., Snel, J.F.H., 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth. Res.* 25, 147–150.
- Via, S., Gomulkiewicz, R., Dejong, G., Scheiner, S.M., Schlichting, C.D., Van Tienderen, P.H., 1995. Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. *Trends Ecol. Evol.* 19, 212–217.
- Violet-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 Physiol.* 174, 603–613.
- Vieira, T.O., Degli-Esposti, M.S.O., Souza, G.M., Rabelo, G.R., Da Cunha, M., Vitória, A.P., 2015. Photoacclimation capacity in seedling and sapling of *Siparuna guianensis* (Siparunaceae): Response to irradiance gradient in tropical forest. *Photosynthetica.* 53, 11–22.
- Villar, R., Merino, J., 2001. Comparison of leaf construction costs in woody species with differing leaf life-spans in contrasting ecosystems. *New Phytol.* 151, 213–226.
- Villela, D.M., Nascimento, M.T., Aragão, L.E.O.C., Gama, D.M., 2006. Effect of selective logging on forest structure and cycling in seasonally dry Brazilian forest. *J. Biogeogr.* 33, 506–516.
- Vitoria, A.P., de Oliveira Vieira, T., de Barbosa Camargo, P., Santiago, L.S., 2016. Using leaf $\delta^{13}\text{C}$ and photosynthetic parameters to understand acclimation to irradiance and leaf age effects during tropical forest regeneration. *For. Ecol. Manag.* 379, 50–60.
- Vitória, A.P., Ávila-Lovera, E., de Oliveira Vieira, T., do Couto-Santos, A.P.L., Pereira, T.J., Funch, L.S., Freitas, L., Miranda, L.A.P., Rodrigues, P.J.F.P., Rezende, C.E., Santiago, L.S., 2018. Isotopic composition of leaf carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) of deciduous and evergreen understorey trees in two tropical Brazilian Atlantic forests. *J. Trop. Ecol.* 34, 145–156.
- Vogelmann, T. C., 1993. Plant tissue optics. *Ann. Rev. Plant Biol.* 44, 231–251.
- Vogelmann, T.C., Martin, G., 1993. The functional significance of palisade tissue: penetration of directional versus diffuse light. *Plant, Cell Environ.* 16, 65–72.
- Wellburn, A.R., 1994. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *J. Plant Physiol.* 144, 307–313.
- Witkowski, E.T.F., Lamont, B.B., 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia.* 88, 486–493.
- Woodward, F.I., Lake, J.A., Quick, W.P., 2002. Stomatal development and CO₂: ecological consequences. *New Phytol.* 153, 477–484.
- Zar, J.H., 2010. *Biostatistical Analysis*. third ed. Prentice Hall, New Jersey.
- Zhang, L., Yang, J., Huang, Y., Jia, Z., & Fang, Y. (2018). Leaf venation variation and phenotypic plasticity in response to environmental heterogeneity in *Parrotia subaequalis* (HT Chang) RM Hao et HT Wei, an endemic and endangered tree species from China. *Forests.* 9, 247.

- 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.
- Zhou, R., Yu, X., Ottosen, C.O., Rosenqvist, E., Zhao, L., Wang, Y., Wu, Z., 2017. Drought stress had a predominant effect over heat stress on three tomato cultivars subjected to combined stress. *BMC plant Biol.* 17, 24.

4.8 Data in Brief

Title: *Leaf structural, physiological and nutritional characteristics of species co-occurring in restinga and semideciduous seasonal forest ecosystems*

Authors: Saulo Pireda^a, Dhiego da Silva Oliveira^a, Neilor Lacorte Borges^a, Gabriel do Amaral Ferreira^a, Laura Mathias Barroso^b, Priscila Simioni^c, Ângela Pierre Vitória^d, Maura Da Cunha^{a,*}

Affiliations: ^a Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, Centro de Biociências e Biotecnologia. Brazil.

^b Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Laboratório de Entomologia e Fitopatologia, Campos dos Goytacazes, RJ, Brazil.

^c Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Laboratório de Anatomia Vegetal. Brazil.

^d Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Laboratório de Ciências Ambientais, Centro de Biociências e Biotecnologia. Brazil.

Contact email: maurauenf@gmail.com; Tel: +55 (22) 27397263.

Abstract

The focus of this study was to present additional data on the leaf structural, physiological and nutritional characteristics of three species (*Maytenus obtusifolia*, *Manilkara subsericea* e *Inga laurina*), co-occurring in restinga and semideciduous seasonal forest (forest). Leaf structural, physiological and nutritional analyzes were performed in the three species to identify possible adaptive strategies that could explain the co-occurrence of these species in the restinga and forest. The findings reported here suggest that the species change the leaf anatomical and physiological characteristics as well its nutritional composition in response to the contrasting environmental conditions between the restinga and forest.

Keywords: gas exchange, leaf anatomy, chlorophyll a fluorescence

Specifications Table

Subject area	<i>Biology</i>
More specific subject area	<i>anatomical, photosynthetic and nutritional analyzes</i>
Type of data	<i>Table, graph, figure</i>
How data was acquired	<i>Light microscopy (Axioplan, ZEISS, Germany); infrared carbon dioxide analyzer (LCpro-SD, ADC BioScientific Ltd., UK); portable fluorimeter (OS5p Opti-Sciences, UK).</i>
Data format	<i>analyzed</i>
Experimental factors	<i>For the light microscopic analysis, leaf fragments were collected and placed in fixation solution (2.5% glutaraldehyde, 4% formaldehyde and 0.05M sodium cacodylate buffer).</i>
Experimental features	<i>For the anatomical analyzes, leaf fragments were processed according to the usual methodology for light microscopy. The analyzes of gas exchange were carried out in the field, at 8h and 12h, using infrared carbon dioxide analyzer. The quantum yield of PSII analyzes were performed on the same leaves used in the gas exchange analysis, for which a portable fluorimeter was used. The leaf nutrient analyzes were performed according to Embrapa (2000) methodology.</i>
Data source location	<i>Field data were obtained in the two areas: Restinga - São João da Barra, RJ - Brazil (21° 79'71 "S, 41° 04'25" W) and Forest - São Francisco do Itabapoana, RJ - Brazil (21 ° 41'57 "S, 41 ° 07 ' '76 "W). Laboratory analyzes were performed at the Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ - Brazil.</i>
Data accessibility	<i>Data provided with in this article</i>

Value of the data

- There is no description for the leaf anatomical characteristics of *M. obtusifolia*, *M. subsericea* and *I. laurina* in the literature. In this sense, this information can provide subsidies for taxonomic, ontogenetic and ecological studies.
- Ecophysiological studies on native species of the Atlantic Forest are scarce. Thus, the data presented in this study may draw the attention of other researchers working with ecophysiology of native species.
- The results presented in this work on the nutritional composition of leaves, and the physical-chemical characteristics of the soil may serve as a reference for other studies in restinga and semideciduous seasonal forest areas.
- Anatomical and physiological differences presented in this study, show that the species studied need to adjust their phenotypic characteristics to co-occur in restinga and semideciduous seasonal forest. This information is important to encourage further studies on the phenotypic plasticity of native species of the Atlantic Forest.
- Preliminary and detailed identification of key functional traits in the plant community of restinga and semideciduous seasonal forests can increase the probability of success in ecological restoration actions and in the reestablishment of ecological and edaphic processes in these ecosystems.

Data

Through the light microscopic, it was possible to describe the leaf anatomical characterization of the studied species and observe differences to leaves of the restinga and forest. *M. obtusifolia* in the restinga present hypostomatic leaf, uniseriate epidermis, palisade parenchyma consisting of two to three cell layers, and spongy parenchyma formed from ten to eleven cells (Figure 1A and B). In the forest, *M. obtusifolia* presents a lower number of cells palisade parenchyma consists of two cell layers and a lower number of cells spongy parenchyma formed from seven to eight cells (Figure 1A and B). In the restinga, *M. subsericea* presents hypostomatic leaves, uniseriate epidermis, palisade parenchyma formed from two to three cells layers, and spongy parenchyma consisting of seven to eight cells (Figure 1 C and D). In the forest, *M. subsericea* leaves present a lower number of cells palisade parenchyma formed by two layers of cells, and a lower number the cells spongy parenchyma consisting of five to six cells (Figure 1 C and D). *I. laurina* did not present anatomical differences between restinga and forest,

where it was possible to observe the presence of uniseriate epidermis, palisade parenchyma formed by two layers of cells, and spongy parenchyma constituted of five to six cells (Figure 1 E and F).

Through the anatomical characterization, it was possible to observe that the greater leaf thickness of *M. obtusifolia* and *M. subsericea* in the restinga was related to the greater amount of cell layers of palisade and spongy parenchyma. However, the greater leaf thickness in *I. laurina* is due to a larger cellular expansion, since the number of cell layers of the palisade and spongy parenchyma did not change between restinga and forest. Adaxial and abaxial epidermis and cuticles also show greater leaf thickness of the species in the restinga (Figure 1 G - R). These data are in agreement with the morphometric analyzes performed on the leaves of these same species by Pireda et al. [1]. The greater thickness of palisade and spongy parenchyma, as well as in the epidermis and cuticles in restingas, are strategies to improve storage and restriction of water loss [2], besides to contribute to the dissipation of excess irradiance [3].

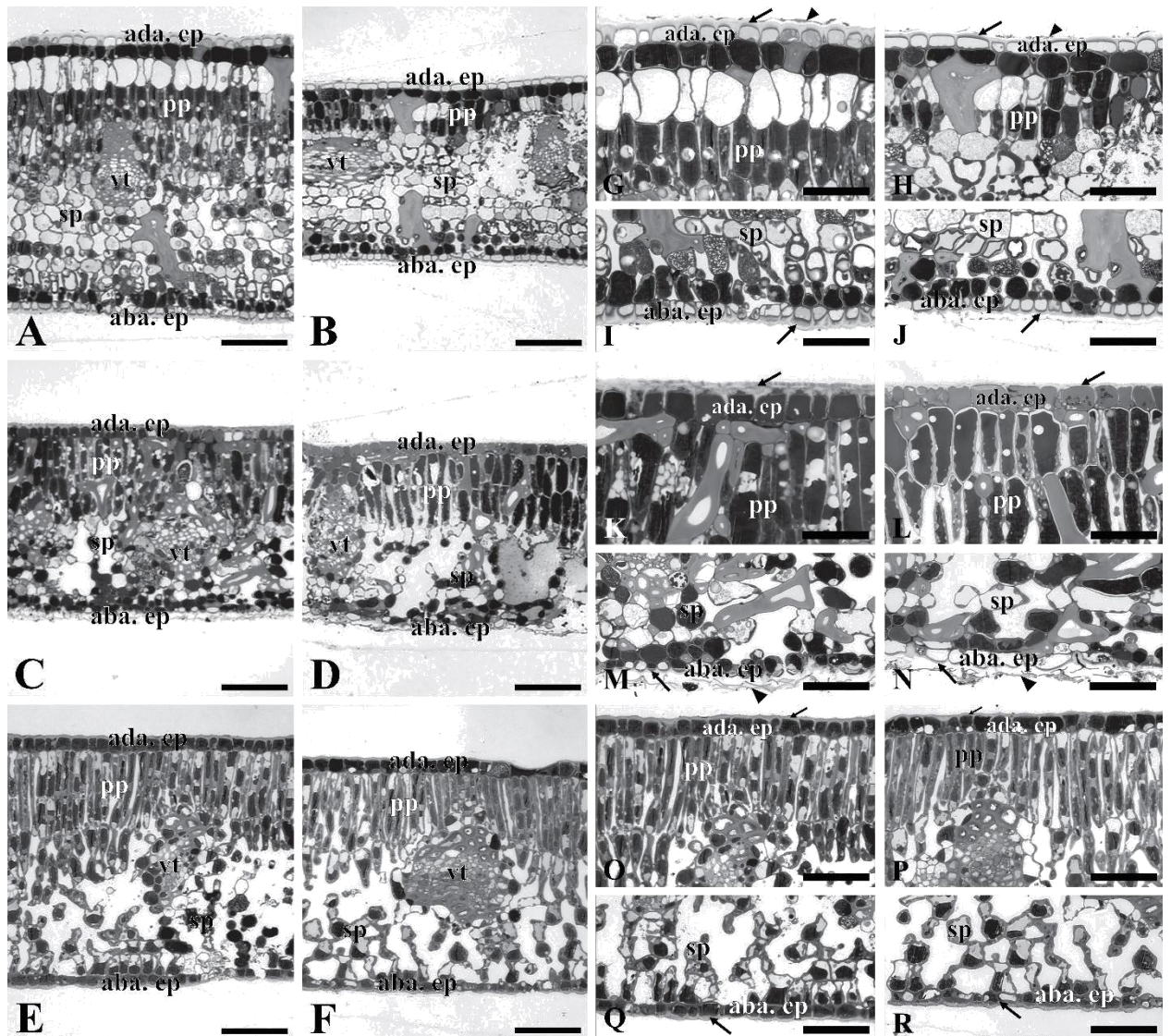


Figure 1. Leaf anatomical characterization of *Maytenus obtusifolia*, *Manilkara subsericea* and *Inga laurina* observed in light microscopy. Leaf blade of *M. obtusifolia* in restinga (A) and forest (B); Leaf blade of *M. subsericea* in restinga (C) and forest (D); Leaf blade of *I. laurina* in restinga (E) and forest (F); Highlight of the adaxial epidermis of *M. obtusifolia* in restinga (G) and forest (H); Highlight of the abaxial epidermis of *M. obtusifolia* in restinga (I) and forest (J); Highlight of the adaxial epidermis of *M. subsericea* in restinga (K) and forest (L); Highlight of the abaxial epidermis of *M. subsericea* in restinga (M) and forest (N); Highlight of the adaxial epidermis of *I. laurina* in restinga (O) and forest (P); Highlight of the abaxial epidermis of *I. laurina* in restinga (Q) and forest (R). ada ep – adaxial epidermis; aba ep – abaxial epidermis; pp – palisade parenchyma; sp – spongy parenchyma; vt – vascular tissue. Bars: A – F: 100 µm; G – R: 50 µm.

Gas exchange analyzes were performed at 8h and 12h hours. Data for CO₂ assimilation ($A \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) showed a reduction at 12h in restinga for all species, while in the forest this reduction was only observed in *I. laurina*. In comparison between the study areas, it was observed that *M. obtusifolia* and *M. subsericea* presented *A* values in restinga at 8h similar or superior to the values found in the forest, while in *I. laurina*

values were always smaller in restinga (Figure 2A). The transpiration rate ($E \text{ mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) were reduced at 12h for all species in the two study areas. For *M. obtusifolia* and *I. laurina*, the E values in restinga were below to those of forest. However, *M. subsericea* presented similar patterns of responses between the hours in two areas (Figure 2B). The stomatal conductance ($g_s \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) were reduced at 12h for all species in both areas. In comparison between areas, all the species showed lower g_s values in restinga when compared to the forest (Figure 2C). The lowest g_s values in the restinga, mainly at 12h, are related to the conditions of low water availability and high DPV. Under these conditions the plants tend to close the stomata to restrict water loss through transpiration (E), and therefore reduce the assimilation of CO_2 (A) [4].

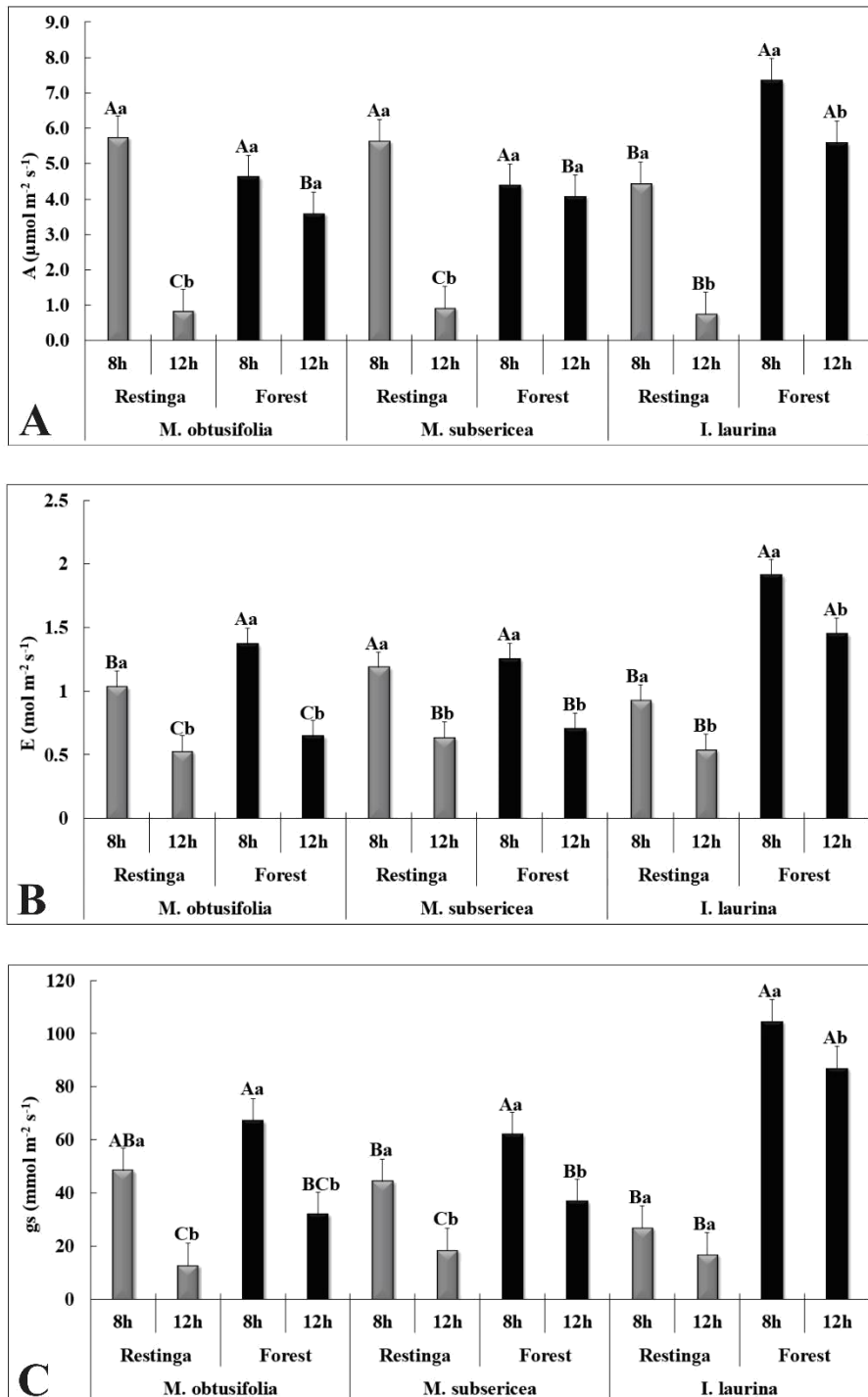


Figure 2. Mean values (\pm standard deviation) from the gas exchange analyses performed during the day (8h and 12h) for the species *M. obtusifolia*, *M. subsericea* and *I. laurina* in restinga and forest. Different letters indicate significant differences between ecosystems. Lowercase letters indicate significant differences between times while uppercase letters indicate differences between areas (ANOVA and Tukey $p \leq 0.05$).

The quantum yield of PSII was performed by the emission of chlorophyll *a* fluorescence at 8h and 12h. The quantum yield of PSII (*YII*) revealed a reduction in *YII*

values at 12h in the restinga for the three species, which was only observed in the forest for *M. obtusifolia*. In comparison to the study areas, *YII* values were lower for all species in restinga compared to the forest, in both times (Table 1). Plants under conditions of low water availability and high temperatures tend to have lower *YII* values [5]. The maximum quantum yield of PSII (*Fv/Fm*) indicates the amount of open reaction center of PSII [6]. The *Fv/Fm* values below 0.75 are indicative of PSII photoinhibition conditions [7]. From the data obtained it was possible to observe that *M. obtusifolia* did not present significant differences between the times and areas of study, with *Fv/Fm* values ranging from 0.77 to 0.78. For *M. subsericea*, a reduction in *Fv/Fm* values was observed in restinga at 12h. However, this reduction is not indicative of impairment of photochemical performance, since the values oscillated between 0.76 and 0.79. For *I. laurina* the *Fv/Fm* values in restinga at both times were less than 0.75, with values ranging from 0.72 to 0.74, while in the forest the values were 0.79 (Table 1).

Table 1. Mean values (\pm standard deviation) for the analysis of the chlorophyll fluorescence emission performed during the day (8h and 12h) for the species *M. obtusifolia*, *M. subsericea* and *I. laurina* in restinga and forest. Different letters indicate significant differences to ecosystems. Lowercase letters indicate differences between hours while uppercase letters indicate significant difference between areas. (ANOVA and Tukey $p \leq 0.05$).

Species	Ecosystem	Hour	Traits					
			Y(II)		Fv/Fm			
<i>M. obtusifolia</i>	Restinga	8:00h	0.41	\pm 0.13	Ba	0.77	\pm 0.13	Aa
		12:00h	0.34	\pm 0.10	Bb	0.77	\pm 0.10	Aa
	Forest	8:00h	0.75	\pm 0.01	Aa	0.77	\pm 0.01	Aa
		12:00h	0.68	\pm 0.03	Ab	0.78	\pm 0.03	Aa
<i>M. subsericea</i>	Restinga	8:00h	0.40	\pm 0.11	Ba	0.77	\pm 0.11	Aa
		12:00h	0.23	\pm 0.08	Bb	0.76	\pm 0.08	Ba
	Forest	8:00h	0.69	\pm 0.02	Aa	0.78	\pm 0.02	Aa
		12:00h	0.67	\pm 0.03	Aa	0.79	\pm 0.03	Aa
<i>I. laurina</i>	Restinga	8:00h	0.43	\pm 0.17	Ba	0.74	\pm 0.17	Ba
		12:00h	0.26	\pm 0.09	Bb	0.72	\pm 0.09	Ba
	Forest	8:00h	0.55	\pm 0.10	Aa	0.79	\pm 0.10	Aa
		12:00h	0.58	\pm 0.08	Aa	0.79	\pm 0.08	Aa

Through the leaf nutritional analysis, it was possible to observe that P and C did not present significant differences to the restinga and forest for the three species. The C/N

ratio presented significant differences only for *M. subsericea* with higher values in the restinga. The amount of N was higher in the forest for *M. obtusifolia* and *M. subsericea*, which is directly related to the greater cycling of nutrients in the forest. However, for *I. laurina* the highest N values were observed in the restinga (Table 2). These data can be explained by the fact that *I. laurina* only occurs in areas of restinga with well-consolidated nucleation. In these nucleation points, greater cycling of organic matter occurs. As *I. laurina* establishes symbiotic relationships with nitrogen-fixing bacteria, it may favor nitrogen removal in relation to neighboring species [8].

Table 2. Leaf nutritional analysis of *M. obtusifolia*, *M. subsericea* and *I. laurina* in restinga and forest ecosystems. Asterisks indicate significant differences between restinga and forest (T-test, $p \leq 0.05$).

Species	Ecosystem	N		P		C		C/N	
		g/Kg							
<i>M. obtusifolia</i>	Restinga	12.66 ±	1.43	0.55 ±	0.09	202.20 ±	10.62	16.19 ±	2.60
	Forest	15.50 ±	0.85*	0.64 ±	0.06	215.40 ±	8.17	13.92 ±	0.66
<i>M. subsericea</i>	Restinga	13.70 ±	0.79	0.56 ±	0.09	222.60 ±	6.89	16.30 ±	1.39*
	Forest	15.67 ±	0.46*	0.61 ±	0.03	221.40 ±	7.93	14.15 ±	0.90
<i>I. laurina</i>	Restinga	25.58 ±	0.58*	0.83 ±	0.04	221.40 ±	11.98	8.67 ±	0.66
	Forest	23.98 ±	0.67	0.83 ±	0.08	216.00 ±	4.38	9.02 ±	0.44

The soil nutritional and physical-chemical analyzes revealed a higher amount of K, Ca, Mg, Na, C and N in the forest (Table 3). These data were unexpected since higher values of salts were expected in the restinga. However, this data can be explained by three factors: 1. Distance from the collection area to the sea line (± 250 m); 2. Low nutrient cycling capacity in the restinga; 3. Sandy soil characteristics of the restinga. As the collection areas in the restinga were distant from the sea line, the deposition of salts is due only to the cycling of nutrients. However, the nutrient cycling in the restinga is very small, that results in a low release of salts in the soil. In addition, the sandy soil of the restinga presents a low capacity of nutrients retention, easily leached by rainfall [9]. The chemical characteristics of the soil as, the sum of bases (SB), effective cation exchange capacity (t) and potential cation exchange capacity (T) were higher in the forest (Table 3), due to the smaller amount of salts in the soil of the restinga [10]. The amount of aluminum, aluminum saturation percent (m) and bases saturation percent at pH 7.0 (V) did not present differences between the restinga and forest (Table 3).

Table 3. Nutritional and physical characteristics of the soil of the restinga and forest. SB – sum of bases; T – potential cation exchange capacity; t – effective cation exchange capacity; m – aluminum saturation percent; V – bases saturation percent at pH 7.0. Asterisks indicate significant differences between restinga and forest (T-test, $p \leq 0.05$).

Soil Characteristic	Restinga	Forest
P (mg dm ⁻³)	4.00	8.60
K (mg dm ⁻³)	17.20	159.60*
Ca (cmolc dm ³)	0.50	1.60*
Mg (cmolc dm ³)	0.18	1.74*
Na (cmolc dm ³)	0.08	0.53*
C (%)	0.85	2.98*
N (%)	0.09	0.20*
Al (cmolc dm ³)	0.16	0.12
SB (cmolc dm ³)	0.80	4.26*
T (cmolc dm ³)	2.48	10.44*
t (cmolc dm ³)	0.96	4.46*
m (%)	7.64	7.16
V (%)	32.54	38.98

Experimental Design, Materials and Methods

Study area and plant material

The restinga area is located in São João da Barra – RJ, Brazil (21°79'71" S, 41°04'25" W) and the forest area is located in São Francisco do Itabapoana – RJ, Brazil (21°41'57" S, 41°07'76" W). The straight-line distance between these two areas is approximately 40 km (Figure 3). Despite the geographic proximity, the two areas have contrasting microclimatic, edaphic and vegetative characteristics, which were shown in Pireda et al. [1] and in Figure 3.

Maytenus obtusifolia Mart. (Celastraceae), *Manilkara subsericea* (Mart.) Dubard (Sapotaceae) and *Inga laurina* (Sw.) Willd. (Fabaceae) (Figure 3 J – O) were selected based in co-occurrence in the two ecosystems; high importance value index (IVI); and relative frequency (RF). Five individuals were selected from each species in both restinga and forest, and five leaves were collected from the third node.



Figure 3. Characterization of the study areas and the three species. A – Overview of the study areas highlighting the straight-line distance between RPPN Fazenda Caruara (restinga) and EEEG (forest) (Google Earth). B – Overview of the forest area, highlighting the presence of a lake in the surroundings. C – Overview of the restinga area. D – Detail of the canopy in the forest area. E – Absence of a canopy in the restinga area. F – Detail of understory in the forest area, highlighting the great diversity of species. G – Absence of understory in the restinga area. H – Detail of soil in the forest area, highlighting the presence of litter. I – Detail of soil in the restinga area, highlighting its sandy characteristic. Detail of *M. obtusifolia* species in the forest (J) and in the restinga (K); *M. subsericea* in the forest (L) and in the restinga (M); and *I. laurina* in the forest (N) and in the restinga (O). Figures B – O: personal archive.

Light Microscopy

Three leaves of each species were selected for analysis for light microscopy. Fragments of the median third of the leaf blade were fixed in a solution of 2.5% glutaraldehyde, 4% formaldehyde and 0.05M sodium cacodylate buffer at pH 7.2 [11]. Post-fixed in 1% osmium tetroxide and 0.05M sodium cacodylate buffer for 2h at room temperature. The samples were then dehydrated in a crescent series of acetone and infiltrated and embedded in epoxy resin (Epon[®]). Semi-fine sections (70 μ m) were obtained with an ultramicrotome (Reichert Ultracuts Leica Instruments[®]), which were stained with 1% toluidine blue and 1% borax buffer [12] and observed under an optical

microscope (Axioplan, ZEISS, Germany) coupled to an image capture system (Moticam Pro 282B, Hong Kong).

Gas exchange

For analysis of gas exchange five completely expanded leaves were selected from each of the five individuals selected for the three species in the restinga and forest, for a total of $n = 50$ leaves per species. These analyses were performed at 8h and 12h with the aid of a portable infrared carbon dioxide analyzer (LCpro-SD, ADC BioScientific Ltd., UK), with a chamber with controlled irradiance conditions at $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The temperature and humidity conditions were not controlled so the environmental conditions were recorded. The CO_2 was captured directly from the environment approximately 2-m in height above the leaf surface, with the aid of an air probe. The parameters evaluated are the following: liquid photosynthetic rate ($A \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), transpiration rate ($E \text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and stomatal conductance ($g_s \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$).

Chlorophyll a fluorescence

The emission of chlorophyll *a* fluorescence was measured for the same leaves selected for gas exchange analysis with the aid of a portable fluorimeter at 8h and 12h (OS5p Opti-Sciences, UK). For this, the leaves were submitted to dark adaptation for 30 min and then exposed to low intensity modulated red light at approximately $6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ at 660 nm, followed by exposure to high intensity actinic white light ($10,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) applied for 0.8 seconds [13][14]. The determined variables were maximum quantum yield of PSII (F_v/F_m) and quantum efficiency of PSII (YII).

Leaf nutritional analysis

For leaf nutritional analysis, approximately 500g of fresh leaves per individual were collected from each species, being a total of $n = 10$ per species, to evaluate C, N, and P content and the C/N ratio. The analyses were performed at Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus – Campos dos Goytacazes, Brazil, following the methodology of Embrapa [15].

Nutritional and physical-chemical analyzes of the soil

For the nutritional and physical-chemical analyzes of the soil, four soil samples were collected close to five individuals of each species, with the aid of a probe. These samples were subsequently homogenized, totaling 15 composite samples. The analyses

were performed at Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Campus – Campos dos Goytacazes, Brazil, following the methodology of Embrapa [16].

Statistic analysis

Normality of the data was assessed using the Shapiro-Wilk test [17] when $n < 30$ and the Kolmogorov-Smirnov test [18] when $n > 30$. Homogeneity of the data was tested by the Levene test [19]. The T-test was used to evaluate the significance of differences between means [19], when analyzing pairs, and ANOVA, followed by the Tukey test ($p < 0.05$) [20]. The statistical analysis was performed using Statistica7 software [21].

Acknowledgments

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); and Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio de Janeiro (FAPERJ); Centro Multiusuário CME-LBCT for the infrastructure provided; B. F. Ribeiro for technical work in laboratory of LBCT/CBB/UENF. This study is a part of the PhD. degree thesis of S. P. carried out at UENF.

References

- [1] Pireda, S., Oliveira, D.S., Borges, N.L., Ferreira, G.A., Barroso, L.M., Simioni, P., Vitória, A.P., Da Cunha, M., *in press*. Acclimatization capacity of leaf attributes of species co-occurring in restinga and seasonal semideciduous forest ecosystems. *Environ. Exp. Bot.*
- [2] 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 south-eastern Spain. *J. Arid Environ.* 118, 69–83.
- [3] Gates, D.M., 1980. *Biophysical ecology*. Springer-Verlag, New York, USA, Heidelberg, Berlin, Germany, p 611.
- [4] Flexas, J., Barbour, M.M., Brendel, O., Cabrera, H.M., Carriquí, M., Diaz-Espejo, A., Gallé, A., 2012. Mesophyll diffusion conductance to CO₂: an appreciated central player in photosynthesis. *Plant Sci.* 193, 70–84.
- [5] Zhou, S., Duursma, R.A., Medlyn, B.E., Kelly, J.W., Prentice, I.C., 2013. How should we model plant responses to drought? Analysis of stomatal and non-stomatal responses to water stress. *Agric. For. Meteorol.* 182, 204–214.
- [6] Maxwell, K., Johnson, G.N., 2000. Chlorophyll Fluorescence – a practical guide. *Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant. Mol. Biol.* 42, 313–49.
- [7] 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.
- [8] Gyaneshwar, P., Hirsch, A.M., Moulin, L., Chen, W.M., Elliott, G.N., Bontemps, C., Santos, P.E., Gross, E., Reis, F.B., Sprent, J.I., Young, J.P.W., James, E.K., 2011. Legume-nodulating beta proteobacteria: diversity, host range, and future prospects. *Mol. Plant Microbe Interact.* 24, 1276–1288.
- [9] Andrade, M.A.B., 1967. Contribuição ao conhecimento da ecologia das plantas das dunas do litoral do estado de São Paulo. *Boletim Bot.* 305, 3–107.
- [10] Henriques, R.P.B., Araújo, D.S.D., Hay, J.D., 1986. Descrição e classificação dos tipos de vegetação da restinga de Carapebus, Rio de Janeiro. *Rev. Bras. Bot.* 9, 173–189.

- [11] 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.
- [12] Johansen, D.A., 1940. *Plant microtechnique*. New York, McGraw-Hill Book Co. Inc., 523p.
- [13] 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.
- [14] Van Kooten, O., Snel, J.F.H., 1990. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynth. Res.* 25, 147–150.
- [15] Embrapa, 2000. *Métodos de análise de tecidos vegetais utilizados na Embrapa Solos*. Rio de Janeiro, Brazil.
- [16] Embrapa, 1997. *Manual de métodos de análise de solo / Centro Nacional de Pesquisa de Solos*, second ed. Rio de Janeiro, Brazil.
- [17] Shapiro, S.S., Wilk, M.B., 1965. An Analysis of Variance Test for Normality (Complete Samples). *Biometrika*. 52, 591–611.
- [18] Hollander, M., Wolfe, D.A., 1973. *Nonparametric statistical methods*, New York: John Wiley & Sons, Inc.
- [19] Zar, J.H., 1996. *Biostatistical Analysis*. third ed. Prentice Hall, New Jersey.
- [20] Tukey, J.W., 1953. The problem of multiple comparisons. Unpublished manuscript. Princeton University
- [21] Statsoft (1993) *Statistica: Statsoft for windows: General conventions and statistics I. User's Handbook*. Tulsa, Microsoft Corporation.

CAPÍTULO 2

**CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E IDENTIFICAÇÃO DE ATRIBUTOS
FUNCIONAIS DO LENHO QUE CAPACITARAM ESPÉCIES
VEGETAIS DE CO-OCORREM EM ECOSSISTEMAS DE RESTINGA
E FLORESTA ESTACIONAL SEMIDECIDUAL**

* Este trabalho será submetido à revista Flora.

5. CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E IDENTIFICAÇÃO DE ATRIBUTOS FUNCIONAIS DO LENHO QUE CAPACITARAM ESPÉCIES DE PLANTAS CO-OCORREM EM ECOSSISTEMAS DE RESTINGA E FLORESTA ESTACIONAL SEMIDECIDUAL

Saulo Pireda^a, Glaziele Campbell^a, Gabriel do Amaral Ferreira^a, Dhiego da Silva Oliveira^a, Maura Da Cunha^{a,*}

^aUniversidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, Centro de Biociências e Biotecnologia. Brazil.

***Corresponding author:** maurauenf@gmail.com; Tel: +55 (22) 27397263.

5.1 Resumo

Restingas e florestas estacionais semidecidual (FES) são fitofisionomias pertencentes à Mata Atlântica, que apresentam 60% de similaridade entre as espécies co-ocorrentes. No entanto, as condições microclimáticas e edáficas entre essas fitofisionomias são bastante contrastantes. As restingas são ambiente áridos, com baixa capacidade de retenção de água, enquanto as FES, são ambientes mais úmidos, com um maior aporte hídrico. Acredita-se que a diferença na disponibilidade hídrica, entre a restinga e FES, possa ter afetado as características estruturais do lenho de espécies que co-ocorrem nessas duas fitofisionomias. Nesse sentido, o presente estudo visa identificar quais os principais atributos funcionais do lenho capacitaram *Maytenus obtusifolia*, *Manilkara subsericea* e *Inga laurina* a co-ocorrer em ambas fitofisionomias. Para isso, amostras do lenho foram coletadas e processadas seguindo as recomendações do IAWA Committee. Os resultados demonstraram que as espécies na restinga apresentaram elementos de vasos menores e em maior quantidade, enquanto na FES, os vasos eram mais largos e longos. Além disso, as espécies na restinga investiram na construção de parênquima radial e axial mais largos e em maior quantidade, favorecendo o transporte lateral de água e o armazenamento de moléculas osmorreguladoras. As espécies na FES apresentaram uma maior condutividade hidráulica (Kp) em relação a restinga, o que pode ser explicado pelos maiores valores de diâmetro, comprimento e área do lúmen dos vasos. Os menores valores de Kp na restinga pode ser explicado pelos menores diâmetros dos vasos. As espécies na restinga apresentaram valores inferiores para o índice de vulnerabilidade e mesomorfia em relação FES, indicando uma estratégia dessas espécies para evitar a formação de bolhas de ar nos elementos de vasos. Os resultados demonstraram que as espécies na restinga, em virtude da menor disponibilidade hídrica, investiram em estratégias que conferiram uma maior segurança hídrica, a fim de evitar a embolia, enquanto as espécies na FES, investiram em uma condutividade hídrica mais eficiente.

Palavras-chaves: Mata Atlântica, anatomia da madeira, condutividade hídrica, plasticidade fenotípica.

5.2 Abstract

Restingas and semideciduous seasonal forests (SSF) are typical phytophysiognomies to the Atlantic Forest and present 60% of similarity of co-occurring species. However, the microclimatic and edaphic conditions among these phytophysiognomies are quite divergent. Restingas are arid ecosystems, with low capacity to retain water in the soil, whereas SSF consist in moist environments, with greater water supply. It is possible that the difference of water availability between restinga and SSF may have affected the wood anatomy of some species, hence, enabling its co-occurrence in the two phytophysiognomies. Therefore, the present study aims to identify which are the main wood functional traits that enabled *Maytenus obtusifolia*, *Manilkara subsericea* and *Inga laurina* to co-occur in both phytophysiognomies. For this, wood samples were collected and processed following the recommendations of IAWA Committee. The results showed that the species at restinga presented smaller vessel elements and in greater quantity, while at SSF, the vessels were wider and longer. Additionally, the species at restinga invested in wider and greater quantity of radial and axial parenchyma, promoting lateral water transport and storage of osmoregulatory molecules. The species at SSF showed a higher hydraulic conductivity (Kp) comparing to restinga, which could be explained by the higher values of diameter, length and lumen area of the vessels. Hence, the lower values for Kp found at restinga were due to smaller diameters vessels. The species at restinga presented lower values for vulnerability and mesomorphy index comparing to species at SSF, indicating a strategy to avoid the formation of air bubbles in the vessel elements of these species. In conclusion, the results demonstrated that the species at restinga have invested in strategies to avoid embolism, thus, providing greater water security due to the low water availability in this ecosystem, whereas at SSF, the species have invested in a more efficient water conductivity.

Keywords: Atlantic Forest, phenotypic plasticity, water conductivity, wood anatomy.

5.3 Introdução

As restingas e florestas estacionais semidecíduais (FES) são ecossistemas que compõem o mosaico de fitofisionomias da Mata Atlântica (Joly et al. 1991; Fundação SOS Mata Atlântica 2019). As restingas são planícies arenosas Quaternárias, formado a aproximadamente 7.000 anos, resultado de processos de regressão do mar (Freitas et al., 2017). Essa regressão teria deixado desnuda uma grande faixa de areia, que posteriormente foram colonizadas por espécies de plantas oriundas de outros ecossistemas (Scarano 2002). Alguns autores sugerem que as FES, por serem ecossistemas mais antigos, formados durante o período Terciário, teriam contribuído para a consolidação das formações vegetacionais de restinga (Assumpção & Nascimento 2000; Araújo 2000; Garay et al. 2008).

No entanto, as condições ambientais entre a FES e a restinga são muito contrastantes. A restinga é um ambiente árido, que apresenta solo arenoso com baixa capacidade de retenção de água (Rosado & de Mattos 2007). Sendo assim, a disponibilidade de água nas restingas, ocorrem apenas durante os momentos de precipitação (Schwinning & Ehleringer 2001). Além disso, as altas temperaturas e baixa umidade relativa do ar, tendem a aumentar o déficit de pressão de vapor (DPV), amplificando as condições de aridez das restingas (Assumpção & Nascimento 2000). A FES, por sua vez, apresenta um dossel bem consolidado, que propicia um ambiente mais úmido e com temperaturas mais baixas (Mau et al. 2018), além de contribuir para a formação de serapilheira, que ajuda a manter a umidade do solo (Sloboda et al. 2017). Adicionalmente, o solo da FES é argiloso, e apresenta uma maior capacidade de retenção de água (Villela et al. 2006).

Essa diferença na disponibilidade hídrica, entre a restinga e floresta, pode ter influenciado diretamente as características anatômicas do lenho. Em ambientes mais secos, as plantas ficam muito mais vulneráveis as formações de bolhas de ar nos elementos de vasos (Sperry & Tyree 1990; Hacke et al. 2006, Nardini et al. 2017), o que comprometem o fluxo de água. Sendo assim, as plantas passam a expressar características estruturais no lenho que minimizem a formação dessas embolias. As plantas investem principalmente em vasos mais curtos e com menor diâmetro, uma vez, que vasos menores tem menos riscos de sofrer embolia (Carlquist 2001; Hacke et al. 2006). No entanto, a redução do tamanho dos vasos compromete a condutividade hidráulica da planta, representando um *trade-off* entre segurança e eficiência hidráulica (Poorter et al. 2010). Adicionalmente, as plantas tendem a investir em uma maior quantidade de células do

parênquima radial e axial, como uma forma de estabelecer rotas alternativas para o transporte de água, a fim de desviar de possíveis bolhas de ar formadas nos vasos, e não comprometer o desempenho hidráulico das plantas (Carlquist 2001; James et al. 2003). Em contrapartida, em ambientes onde a disponibilidade hídrica é maior, as plantas estão menos vulneráveis a formação de embolia, e por isso, podem investir em vasos mais largos para favorecer uma condutividade hidráulica mais eficiente (Schuldt et al. 2016; Rungwattana & Hietz 2018).

No entanto, essa capacidade das plantas em ajustarem os atributos funcionais do lenho em respostas as diferenças na disponibilidade hídrica, está diretamente relacionada a capacidade do genótipo em expressar diferentes fenótipos, a fim de obter uma melhor adaptabilidade as condições do ambiente (Bradshaw 1965; Valladares et al. 2006). A plasticidade fenotípica expressa a forma como os organismos se desenvolvem, funcionam e evoluem em seus ambientes (Sultan 2000). No entanto, nem sempre uma maior plasticidade fenotípica representa uma maior performance (plasticidade não-adaptativa) e podem em alguns casos diminuir a performance dos organismos (plasticidade desadaptativa) (van Kleunen & Fisher 2005; Valladares et al. 2007). Nesse sentido, alguns autores acreditam que fenótipos mais integrados podem responder mais eficientemente as variações ambientais, e reduzem os custos da expressão de atributos não-adaptativos e/ou desadaptativos (Pigliucci 2003; Gianoli 2004; van Kleunen & Fischer 2005; Poot & Lambers 2008). Porém, Godoy et al. (2012) defendem que tanto a plasticidade quanto a integração fenotípica podem atuar sinergicamente na adaptabilidade das plantas as condições ambientais.

Partindo do pressuposto de que as espécies necessitam ajustar e/ou integrar seus atributos funcionais para se adaptarem a ambientes contrastantes, é possível afirmar que a co-ocorrência das espécies na restinga e floresta, frente a diferença de disponibilidade hídrica entre esses dois ecossistemas, envolveram ajustes nas características estruturais do xilema secundário. Sendo assim, o presente estudo é norteado por três questionamentos: (1) Quais os principais atributos funcionais do lenho permitiram com que as espécies co-ocorressem na restinga e floresta? (2) Será que as espécies na restinga, em resposta a menor disponibilidade hídrica, irão investir mais em segurança hidráulica, em detrimento de uma menor eficiência hídrica? (3) As respostas adaptativas do lenho são espécies-específicas ou há um padrão de resposta comum as espécies direcionadas pelo ambiente?

5.4 Material e Métodos

5.4.1 Área de estudo

O trabalho foi conduzido em duas áreas, uma de restinga e outra de Floresta Estacional Semidecidual de Tabuleiro (referida neste estudo como “floresta”).

A área de restinga foi a Reserva Particular do Patrimônio Natural – RPPN Fazenda Caruara, localizada no estado do Rio de Janeiro, Brasil (21°79’71” S e 41°04’25” O), sendo considerada o maior representante de restinga do norte do estado do Rio de Janeiro, com aproximadamente 5.000 ha. O solo da região é caracterizado como areias quartzosas marinhas associadas à podzol hidromórficos (RadamBrasil, 1983). O clima é caracterizado como *Aw* por Alvares et al. (2013), com precipitação pluviométrica média anual variando de 800 a 1200 mm, apresentando maiores taxas de precipitação durante os meses de verão (novembro a janeiro), e os menores nos meses de inverno (maio a agosto), e a temperatura média varia de 20 a 30 °C (Assumpção & Nascimento, 2000).

A área de Floresta Estacional Semidecidual de Tabuleiro selecionada foi a Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba (EEEG), localizada no estado do Rio de Janeiro, Brasil (21°41’57” S e 41°07’76” O), e é considerada um dos maiores remanescentes de Floresta Estacional Semidecidual de Mata de Tabuleiro do estado do Rio de Janeiro, com uma área total de 3.260 ha, sendo que apenas 1.200 ha são de floresta (INEA, 2011). O solo da região é classificado como argissolo amarelo com textura arenosa, com baixa capacidade de retenção de água e pobre em nutrientes (Villela et al. 2006). O clima local é classificado como *Aw* por Alvares et al. (2014), com precipitação média anual de aproximadamente 1000 mm, tendo o mês de dezembro como mês mais úmido, e o de agosto como o mais seco (Villela et al. 2006). Apresenta uma acentuada sazonalidade marcada pela seca entre os meses de maio a agosto (RadamBrasil, 1983).

A distância entre essas duas áreas é de aproximadamente 40 km em linha reta. No entanto, as características vegetacionais entre as duas áreas são bastante contrastantes. A área de restinga é caracterizada por apresentar uma vegetação formada por moitas espaçadas, que não constituem dossel, e não formam serapilheira. A área de floresta apresenta uma vegetação adensada, constituindo um dossel bem consolidado, e apresenta formação de serapilheira (Figura S1).

Desta forma, foi realizado o acompanhamento das características microclimáticas (precipitação, umidade, temperatura, déficit de pressão de vapor (DPV) e velocidade do vento) nas duas áreas durante os anos de 2015 a 2018, com o auxílio da estação meteorológica (Hobo Data Loggers, Onset, Germany). A características microclimáticas

das duas áreas podem ser observadas na Figura 1. Além disso, foram feitas análises das características nutricionais e físico-químicas do solo entre as duas áreas (Tabela 1). Para as análises do solo, foram coletadas quatro amostras simples próximas a cada indivíduo, a uma profundidade de 20 cm. Essas amostras posteriormente foram homogeneizadas, totalizando um n = 25 amostras por área. As propriedades nutricionais e físico-químicas do solo foram realizadas no Centro de Análise da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro – Campus Campos dos Goytacazes seguindo a metodologia Embrapa (1997).

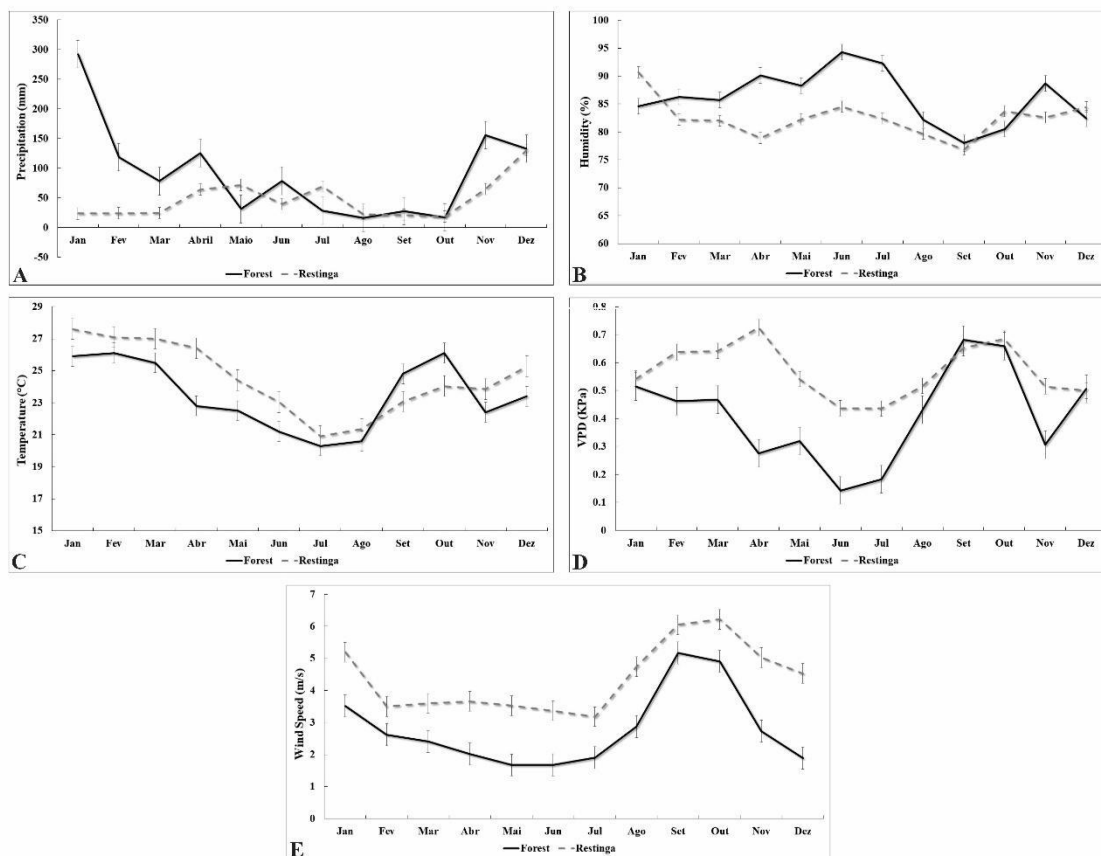


Figura 1. Valores médios (\pm desvio padrão) mensais das análises microclimáticas na área de restinga e floresta, entre os anos de 2015 e 2018. A – Precipitação (mm). B – Umidade (%). C -Temperatura ($^{\circ}$ C). D – Déficit de pressão de vapor (VPD) (KPa). E – Velocidade do vento (m/s).

Tabela 1. Características nutricionais e físico-químicas do solo entre as áreas de restinga e floresta. M.O – matéria orgânica; H + Al – acidez potencial; SB – soma de bases; T – capacidade de troca de cátions a pH7; t – capacidade de troca de cátions efetiva; m – saturação por alumínio; V – saturação por bases; CE – condutividade elétrica.

Características do solo	Restinga	Floresta
Umidade Relativa (%)	2.47	7.90
pH (H ₂ O)	5.46	5.42
P (mg dm ⁻³)	4.00	8.60
K (mg dm ⁻³)	17.20	159.60
Ca (cmolc dm ³)	0.50	1.60
Mg (cmolc dm ³)	0.18	1.74
Na (cmolc dm ³)	0.08	0.53
C (%)	0.85	2.98
N (%)	0.09	0.20
M.O (g dm ³)	14.68	51.36
Al (cmolc dm ³)	0.16	0.20
H + Al (cmolc dm ³)	1.68	6.18
SB (cmolc dm ³)	0.80	4.26
T (cmolc dm ³)	2.48	10.44
t (cmolc dm ³)	0.96	4.46
m (%)	17.64	7.16
V (%)	32.54	38.98
CE (dS/cm)	0.22	0.65
Areia Total (g/Kg)	982.00	788.80
Silte (g/Kg)	0	18.40
Argila (g/Kg)	18.00	192.80
Classe textural	Arenosa	Média

5.4.2 Seleção das espécies

As espécies foram selecionadas segundo os levantamentos florísticos realizados por Assumpção & Nascimento (2000) para a área de restinga (RPPN Fazenda Caruara), e Abreu et al. (2014) para Floresta Estacional Semidecidual de Tabuleiro (EEEG). Os critérios para seleção das espécies foram: co-ocorrência nos dois ecossistemas; elevado índice de valor de importância (IVI); e de frequência relativa (FR). A partir dessas análises foram selecionadas três espécies: *Maytenus obtusifolia* Mart. (Celastraceae), *Manilkara subsericea* (Mart.) Dubard (Sapotaceae) e *Inga laurina* (Sw.) Willd.

(Fabaceae) (Figura S2). Para cada espécie foram selecionados cinco indivíduos, com diâmetro altura do peito (DAP) acima de 10 cm, e altura superior a 2 m (Tabela S1). A coleta do material ocorreu em julho de 2015.

5.4.3 *Processamento do lenho*

Amostras do lenho foram retiradas dos cinco indivíduos selecionados para cada espécie nas duas áreas de estudo, por método não destrutivo, utilizando trado de incremento. As coletas foram realizadas a aproximadamente 1.30 m acima do solo. As amostras do lenho, na região do cerne, foram seccionadas em micrótomo de deslize (SM2010 R, LEICA, Germany) nas seções transversais e longitudinais (radiais e tangenciais) com uma espessura média de 15 μm . O material seccionado foi clarificado em hipoclorito de sódio 50%, e posteriormente, desidratado em série crescente de etanol e corados com azul de Astra e safranina hidroalcoólica (Johansen 1940). Subsequentemente, as seções foram imersas em xilol e montadas em lâminas permanentes com Entellan[®] (Burger & Richter 1991). Para a obtenção do macerado, os corpos de prova do lenho de cada espécie foram submetidos à solução de Franklin (Kraus & Arduin 1997), e colocados em estufa a 60 °C até o material começar a se desintegrar. Após esse procedimento, o material foi corado com safranina aquosa, e montado em lâminas semi-permanentes com solução aquosa de glicerina.

A partir desses processamentos foram avaliados os seguintes atributos funcionais do lenho: 1. Secção transversal: frequência de vasos por mm^2 , diâmetro tangência e radial dos vasos, e área do lúmen dos vasos; 2. Secção longitudinal tangencial: frequência de parênquima radial por mm^2 , comprimento e largura dos parênquimas radiais, pontoações raio-vasculares e intervaskulares, comprimento e número de células dos parênquimas axiais; 3. Secção longitudinal radial: pontoações raio-vasculares; 4. Macerado: comprimento dos vasos, comprimento, diâmetro, lúmen, espessura da parede, e pontoações das fibras. Para mensurar esses atributos foram obtidas imagens em microscópio óptico (Axioplan, ZEISS, Germany), acoplado ao sistema de captura de imagem (Moticam Pro 282B, Hong Kong). As imagens obtidas foram então processadas utilizando o software Image-Pro Plus 4.0.

Todas as descrições e quantificações celulares do lenho foram realizadas seguindo as regras estabelecidas pelo IAWA Committee (1989).

5.4.4 Condutividade hidráulica teórica e índices de vulnerabilidade e mesomorfia

A condutividade hidráulica teórica (K_h) foi calculada de acordo com a lei de Hagen-Poiseuille (Sterck et al. 2008) pela seguinte equação:

$$K_h = (\pi \rho_w / 128 \eta) \cdot DV \cdot Dh^4$$

onde K_h é a condutividade hidráulica teórica ($\text{kg m MPa}^{-1} \text{s}^{-1}$); ρ_w é a densidade da água a 20°C (998.2 kg/m^{-3}), η é a viscosidade da água a 20 °C ($1.002 \cdot 10^{-3} \text{ Pa s}$), DV é a densidade de vasos (vasos/mm^2) e Dh é o diâmetro do vaso hidraulicamente ponderado (mm).

O diâmetro do vaso hidraulicamente ponderado (Dh) foi calculado através da seguinte equação:

$$Dh = (\sum d^4 / N)^{0.25}$$

onde d é o diâmetro equivalente dos vasos (mm) e N o número de vasos mensurados. Como os vasos vistos em secção transversal não são círculos perfeitos, utilizamos a área do lúmen dos vasos para calcular o diâmetro equivalente dos vasos (De) (Scholz et al., 2013) utilizando a seguinte equação:

$$De = \sqrt{4A} \cdot \pi$$

onde A é a área do lúmen dos vasos. A área dos vasos foi mensurada em 25 vasos por indivíduo amostrado.

Para calcular os índices de vulnerabilidade (IV) e mesomorfia (IM), foram utilizadas as equações descritas por Carlquist (2001).

$$IV = \frac{\text{diâmetro tangencial dos vasos}}{\text{frequência dos vasos}}$$

$$IM = IV * \text{comprimento dos elementos de vaso}$$

5.4.5 Índice de plasticidade das distâncias relativas e Integração fenotípica

O índice de plasticidade das distâncias relativas (Relative Distance Plasticity Index - RDPI) foi calculado para todos os atributos funcionais de acordo com Valladares et al. (2006). O RDPI varia de 0 a 1 e permite comparações entre atributos com unidades diferentes (Valladares et al. 2000), obtidos a partir da equação:

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

onde i – corresponde aos tratamentos (áreas); j – corresponde às repetições; n – corresponde ao número de distâncias; $d_{ij \rightarrow i'j'}$ – corresponde à distância relativa entre os tratamentos com os valores das repetições tomados aos pares, com i diferentes de i' e valor absoluto obtido pela diferença $x_{i'j'} - x_{ij}$. A distância relativa $d_{ij \rightarrow i'j'}$ é definida como $d_{ij \rightarrow i'j'} / (x_{i'j'} + x_{ij})$ para todos os pares de repetições dos tratamentos associados aos diferentes níveis de irradiância.

A integração fenotípica (IIF) foi calculada para cada espécie através do percentual de correlações significativas do conjunto total de atributos avaliados ($p \leq 0.05$ – Correlação de Pearson). O percentual de integração fenotípica (%IF) foi calculado a partir da relação entre o número total de correlações entre os atributos (N° Correlações Total) e o número de correlações significativas (N° Correlações Significativas) (Schlichting, 1986; Schlichting & Pigliucci, 1998).

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

O %IF varia de 0 a 100% (ou de 0 a 1), onde 0 representa nenhuma integração e 100% (ou 1) representa integração máxima do sistema (Godoy et al., 2012). Os dados foram obtidos pelo programa Sigma Plot 11.0 software package (SPSS; Chicago, IL, USA).

5.4.6 Análise estatística

Para verificação da normalidade dos dados, foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk (Shapiro & Wilk, 1965) quando $n < 30$ e o teste de Kolmogorov-Smirnov (Hollander & Wolfe, 1973) para $n > 30$. A homogeneidade dos dados foi testada pelo teste de Levene (Zar, 1996). Para avaliar a significância das diferenças entre as médias foi utilizado o Teste-T (Zar, 2010), quando em análises aos pares, e ANOVA, seguido pelo teste de Tukey ($p < 0.05$) (Tukey, 1953) quando em análises múltiplas. As análises do teste de média foram feitas com o software Statistica7 (StatSoft, 1993). Para as análises de correlação de Pearson, foi utilizado o programa Sigma Plot 11.0 software package (SPSS; Chicago, IL, USA).

5.5 Resultados

5.5.1 Caracterização anatômica

Durante a caracterização anatômica a restinga será referida como RES e a floresta como FLO.

Maytenus obtusifolia Mart. (Celastraceae) **Camadas**

de crescimento: indistintas ou ausentes.

Elementos de vaso: porosidade difusa; $240/\text{mm}^2$ (RES) e $110/\text{mm}^2$ (FLO); solitários, em arranjos radiais 2-4 (raro) elementos; seção circular a oval (Figura 2 A e B); comprimento médio de $500\ \mu\text{m}$ (RES) e $600\ \mu\text{m}$ (FLO) (Figura 2 C e D), diâmetro tangencial médio de $30\ \mu\text{m}$ (RES) e $40\ \mu\text{m}$ (FLO), paredes com cerca de $2\ \mu\text{m}$ (RES) e $3\ \mu\text{m}$ (FLO) de espessura; placa de perfuração simples; presença de apêndices em ambas as extremidades (Figura 2 A – D); pontoações intervasculares diminutas, alternas, areoladas, formato circular a oval; pontoações raio-vasculares e parênquima-vasculares semelhantes às intervasculares.

Fibras: septadas e não septadas, comprimento médio de $860\ \mu\text{m}$ (RES) e $1050\ \mu\text{m}$ (FLO) (Figura 2 E e F), diâmetro médio de $17\ \mu\text{m}$ (RES) e $18\ \mu\text{m}$ (FLO), lúmen de $6\ \mu\text{m}$ (RES) e $7\ \mu\text{m}$ (FLO); caracterizadas principalmente como fibrotraqueídes; paredes delgadas a espessa; faixas de fibras parenquimatosas alternadas com fibras comuns

Parênquima axial: paratraqueal e apotraqueal escasso ou ausente (Figura 2 A e G).

Raios: cerca de $20/\text{mm}^2$ (RES) e $15/\text{mm}^2$ (FLO), uniseriados e multiseriados (2-4 células de largura); heterogêneos, integrados por células procumbentes na região central e fileiras de células eretas e/ou quadradas nas margens; altura média de $700\ \mu\text{m}$ (RES) e $500\ \mu\text{m}$ (FLO); presença de raios fusionados (Figura 2 H).

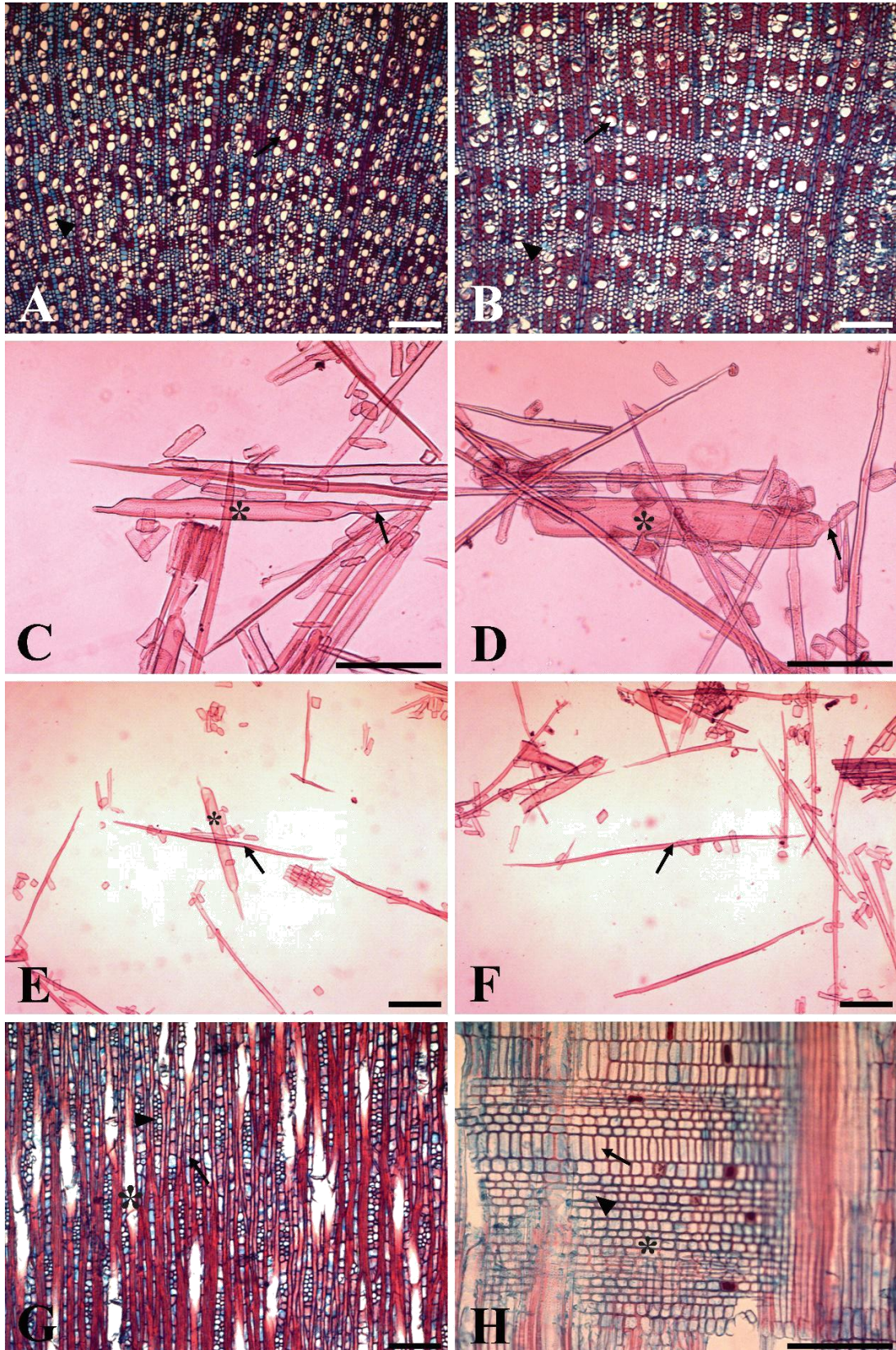


Figura 2. Anatomia do lenho de *Maytenus obtusifolia* na restinga e floresta. A, C e E – restinga. B, D e F – floresta. A e B – Secção transversal, vasos solitários (seta), arranjo radial (cabeça de seta). C e D – Macerado mostrando elementos de vaso (asterisco) e apêndices nas extremidades dos vasos (seta). E e F – Macerado mostrando fibrotraqueídes (seta) e elementos de vaso (asterisco). G – Secção longitudinal tangencial, parênquima radial (cabeça de seta), parênquima axial (seta), elementos de vaso (asterisco). H – Secção longitudinal radial, raios compostos de células procumbentes (cabeça de seta), eretas (seta) e quadradas (asterisco). Barras: A a F – 200 μm ; G e H – 100 μm .

Manilkara subsericea (Sapotaceae)

Camadas de crescimento: indistintas ou ausentes.

Elementos de vaso: porosidade difusa; $100/\text{mm}^2$ (RES) e $50/\text{mm}^2$ (FLO); solitários, em arranjos radiais 2-5 ou em cachos de 4 elementos; seção circular a oval (Figura 3 A e B); comprimento médio de $290\ \mu\text{m}$ (RES) e $350\ \mu\text{m}$ (FLO) (Figura 3 C e D), diâmetro tangencial médio de $40\ \mu\text{m}$ (RES) e $60\ \mu\text{m}$ (FLO), paredes com cerca de $4\ \mu\text{m}$ (RES) e $5\ \mu\text{m}$ (FLO) de espessura; placa de perfuração simples; presença de apêndices em ambas as extremidades (Figura 3 A – D); pontoações intervasculares diminutas, alternas, areoladas, formato circular a oval; pontoações raio-vasculares e parênquima-vasculares semelhantes às intervasculares.

Fibras: septadas e não septadas, comprimento médio de $520\ \mu\text{m}$ (RES) e $670\ \mu\text{m}$ (FLO) (Figura 3 E e F), diâmetro médio de $7\ \mu\text{m}$ (RES) e $10\ \mu\text{m}$ (FLO), lúmen de $2\ \mu\text{m}$ (RES) e $3\ \mu\text{m}$ (FLO); caracterizadas principalmente como libriformes; paredes delgadas a espessa.

Parênquima axial: apotraqueal difuso em agregados, tendendo a formar faixas estreitas ou linhas com até 3 células de largura; paratraqueal escasso. Seriado com 3-7 células de altura (Figura 3 A e G).

Raios: cerca de $22/\text{mm}^2$ (RES) e $23/\text{mm}^2$ (FLO), unisseriados e bisseriados com porções unisseriada; heterogêneos, integrados por células procumbentes na região central e fileiras de células eretas e/ou quadradas nas margens; altura média de $770\ \mu\text{m}$ (RES) e $510\ \mu\text{m}$ (FLO); presença de raios fusionados (Figura 3 H).

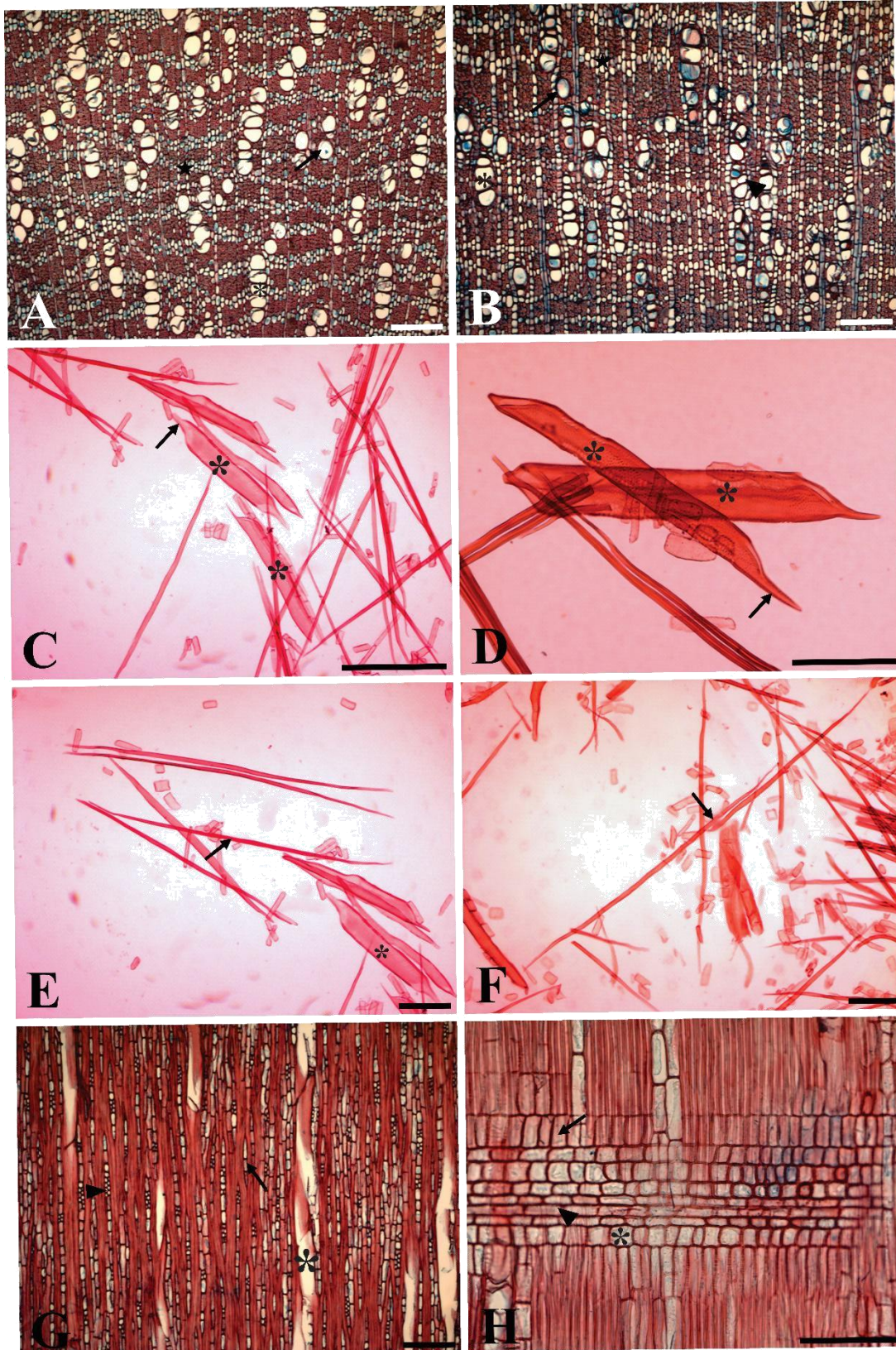


Figura 3. Anatomia do lenho de *Manilkara subsericea* na restinga e floresta. A, C e E – restinga. B, D e F – floresta. A e B – Secção transversal, vasos solitários (seta), arranjo radial (cabeça de seta), cachos (asterisco), parênquima axial em faixa (estrela). C e D – Macerado mostrando elementos de vaso (asterisco) e apêndices nas extremidades dos vasos (seta). E e F – Macerado mostrando fibras-librififormes (seta). G – Secção longitudinal tangencial, parênquima radial (cabeça de seta), parênquima axial (seta), elementos de vaso (asterisco). H – Secção longitudinal radial, raios compostos de células procumbentes (cabeça de seta), eretas (seta) e quadradas (asterisco). Barras: A a F – 200 µm; G e H – 100 µm.

Inga laurina (Sw.) Willd. (Fabaceae)

Camadas de crescimento: indistintas ou ausentes.

Elementos de vaso: porosidade difusa; $11/\text{mm}^2$ (RES) e $7/\text{mm}^2$ (FLO); solitários, em arranjos radiais de 2-5 (raro) ou em cachos de 4 elementos; seção circular a oval (Figura 4 A e B); comprimento médio de 150 μm (RES) e 450 μm (FLO) (Figura 4 C e D), diâmetro tangencial médio de 108 μm (RES) e 140 μm (FLO), paredes com cerca de 4 μm (RES) e 6 μm (FLO) de espessura; placa de perfuração simples, presença de apêndices em ambas as extremidades (Figura 4 A – D); pontoações intervasculares diminutas, alternas, areoladas, formato circular a oval, ornamentadas; pontoações raio-vasculares e parênquima-vasculares semelhantes às intervasculares; presença de gomas ou depósitos (Figura 4 A e B *insert*).

Fibras: septadas e não septadas, comprimento médio de 430 μm (RES) e 1130 μm (FLO) (Figura 4 E e F), diâmetro médio de 7 μm (RES) e 18 μm (FLO), lúmen de 3 μm (RES) e 5 μm (FLO); caracterizadas principalmente como fibrotraqueídes; paredes delgadas a espessa.

Parênquima axial: paratraqueal vasicêntrico, aliforme e confluyente; em faixas com mais de 3 células de largura; seriado com 2-4 células de altura; presença de cristais (Figura 4 A e G)

Raios: cerca de $70/\text{mm}^2$ (RES) e $50/\text{mm}^2$ (FLO), unisseriados e bisseriados com porções unisseriadas (raro); homogêneos, integrados por células procumbentes; altura média de 110 μm (RES) e 170 μm (FLO) (Figura 4 H).

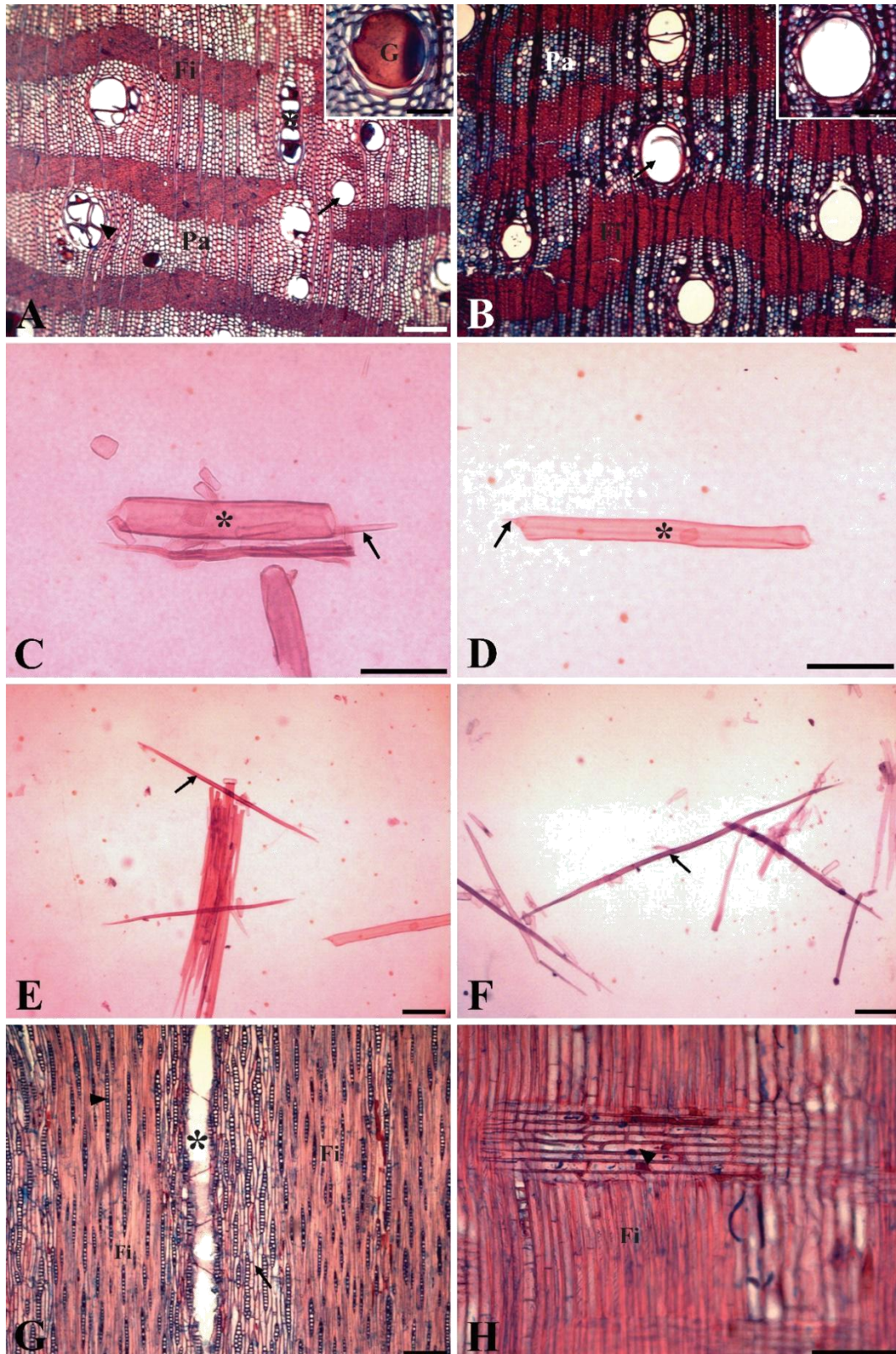


Figura 4. Anatomia do lenho de *Inga laurina* na restinga e floresta. A, C e E – restinga. B, D e F – floresta. A e B – Secção transversal, vasos solitários (seta), arranjo radial (cabeça de seta), cachos (asterisco), parênquima axial em faixa (Pa), fibras (Fi) – *insert* destacando presença de gomas (G) nos elementos de vaso. C e D – Macerado mostrando elementos de vaso (asterisco) e apêndices nas extremidades dos vasos (seta). E e F – Macerado mostrando fibrotraqueídes (seta). G – Secção longitudinal tangencial, parênquima radial (cabeça de seta), parênquima axial (seta), elementos de vaso (asterisco). H – Secção longitudinal radial, compostos de células procumbentes (seta) e fibras (Fi). Barras: A a F – 200 μm ; G e H – 100 μm .

Atributos funcionais do lenho

5.5.2 Atributos funcionais do lenho

As espécies estudadas apresentaram diferenças significativas para quase todos os atributos funcionais do lenho entre a área de restinga e floresta (Tabela 2). As espécies na restinga apresentaram uma maior frequência de elementos de vaso por mm^2 , com valores duas vezes maiores quando comparados a floresta. Em contrapartida, as espécies na floresta investiram na construção de elementos de vaso mais compridos e largos, apresentando maiores valores para o diâmetro tangencial e radial, área do lúmen, e espessura das paredes dos vasos (Tabela 2). Com relação ao comprimento das pontoações intervasculares, raio-vasculares e parênquima-vasculares foram observados valores significativamente maiores nas áreas de restinga quando comparados as pontoações nos vasos nas espécies de floresta (Tabela 2).

As fibras apresentaram maior diâmetro, comprimento e área do lúmen, nas áreas de floresta para todas as espécies (Tabela 2). Porém, algumas características das fibras, como espessura da parede e pontoações não apresentaram um padrão de respostas para todas as espécies entre as áreas. A espessura da parede foi maior apenas para *M. subsericea* e *I. laurina* na floresta, enquanto as pontoações foram maiores para *M. obtusifolia* e *I. laurina* também na floresta (Tabela 2).

Com relação ao parênquima radial e axial, foi observado que as espécies *M. obtusifolia* e *M. subsericea*, apesar de ajustarem de forma diferente as características funcionais desses tecidos, foi sempre observado maiores valores para frequência, comprimento, largura e número de células do parênquima axial e radial na restinga (Tabela 2). Por outro lado, a espécie *I. laurina* não apresentou um padrão de resposta entre as áreas de estudo, sendo observado, maiores valores para frequência e número de célula na restinga, e maiores valores para comprimento e largura do parênquima radial e número de células axiais na floresta (Tabela 2).

Tabela 2. Valores médios (\pm desvio padrão) dos atributos funcionais do lenho das espécies *M. obtusifolia*, *M. subsericea* e *I. laurina* entre os ecossistemas de restinga e floresta. Asterisco e valores em negrito indicam diferenças significativas entre os ecossistemas de restinga e floresta. (T-test, $p \leq 0.05$).

Atributos	<i>M. obtusifolia</i>				<i>M. subsericea</i>				<i>I. laurina</i>			
	Restinga		Florest		Restinga		Florest		Restinga		Florest	
Elementos de vaso												
Frequência (vasos.mm ²)	240.54	\pm 4.60*	112.98	\pm 3.82	100.77	\pm 2.21*	57.04	\pm 1.51	11.52	\pm 0.45*	7.02	\pm 0.19
Comprimento (μ m)	498.94	\pm 6.93	609.10	\pm 7.40*	286.83	\pm 4.37	355.31	\pm 6.33*	152.88	\pm 5.56	451.12	\pm 14.89*
Diametro tangencial (μ m)	26.62	\pm 0.33	36.21	\pm 0.67*	42.00	\pm 0.52	58.67	\pm 0.71*	108.02	\pm 1.86	139.43	\pm 2.30*
Diametro radial (μ m)	27.56	\pm 0.40	36.86	\pm 0.66*	42.71	\pm 0.54	61.54	\pm 0.89*	112.07	\pm 2.19	156.04	\pm 2.77*
Área do lumen (μ m ²)	630.32	\pm 15.19	1134.81	\pm 41.03*	1483.56	\pm 31.79	3184.12	\pm 62.89*	9728.41	\pm 314.41	19063.86	\pm 561.22*
Espessura da parede (μ m)	2.66	\pm 0.048	2.80	\pm 0.050*	3.92	\pm 0.059	4.82	\pm 0.081*	3.98	\pm 0.070	5.98	\pm 0.11*
Pontoações (μm)												
Intervascular (μ m)	2.15	\pm 0.027*	1.98	\pm 0.037	3.51	\pm 0.057*	2.66	\pm 0.040	4.10	\pm 0.060*	2.37	\pm 0.044
Raio-vascular (μ m)	2.22	\pm 0.021*	1.99	\pm 0.024	3.16	\pm 0.048*	2.37	\pm 0.040	4.00	\pm 0.066*	2.50	\pm 0.047
Parênquima-vascular (μ m)	2.16	\pm 0.024*	1.89	\pm 0.019	2.97	\pm 0.036*	2.52	\pm 0.037	3.92	\pm 0.064*	2.40	\pm 0.034
Fibras												
Diametro (μ m)	17.36	\pm 0.18	18.55	\pm 0.24*	7.77	\pm 0.12	9.34	\pm 0.11*	7.53	\pm 0.17	17.95	\pm 0.24*
Lumen (μ m)	6.15	\pm 0.13	7.64	\pm 0.16*	2.22	\pm 0.071	3.26	\pm 0.064*	3.47	\pm 0.13	5.58	\pm 0.12*
Comprimento (μ m)	856.19	\pm 8.99	1047.59	\pm 11.42*	518.80	\pm 7.81	667.37	\pm 6.51*	427.89	\pm 13.83	1128.05	\pm 14.07*
Espessura da parede (μ m)	5.61	\pm 0.071	5.45	\pm 0.093	2.78	\pm 0.047	3.04	\pm 0.041*	2.03	\pm 0.044	6.19	\pm 0.10*
Pontoações (μ m)	3.26	\pm 0.039	4.06	\pm 0.067*	2.06	\pm 0.050	2.07	\pm 0.061	2.12	\pm 0.050	4.31	\pm 0.061*
Parênquima-radial												
Frequência (rays.mm ²)	19.65	\pm 0.36*	16.44	\pm 0.26	22.50	\pm 0.25	23.07	\pm 0.34	68.53	\pm 1.09*	48.13	\pm 0.48
Comprimento (μ m)	704.24	\pm 15.26*	504.12	\pm 11.05	767.43	\pm 14.81*	512.34	\pm 9.76	108.32	\pm 2.42	172.22	\pm 5.58*
Largura (μ m)	35.02	\pm 0.63	34.82	\pm 0.63	28.52	\pm 0.44*	22.66	\pm 0.34	10.52	\pm 0.23	17.48	\pm 0.41*
Parênquima axial												
Comprimento (μ m)	482.08	\pm 9.07	475.63	\pm 10.98	418.87	\pm 8.37*	278.79	\pm 7.85	231.76	\pm 3.85	327.76	\pm 5.95*
Nº de células	8.92	\pm 0.22*	6.77	\pm 0.19	7.74	\pm 0.20*	5.17	\pm 0.17	4.19	\pm 0.12*	2.68	\pm 0.078
Hidraulica												
Kh (kg m s ⁻¹ MPa ⁻¹)	2.37 x 10 ¹⁵	\pm 3.66 x 10 ¹⁴	6.86 x 10¹⁷	\pm 1.00 x 10 ¹⁷ *	6.54 x 10 ¹⁸	\pm 6.95 x 10 ¹⁷	5.70 x 10²⁰	\pm 4.70 x 10 ¹⁹ *	3.66 x 10 ²⁴	\pm 6.58 x 10 ²³	5.10 x 10²⁶	\pm 1.39 x 10 ²⁶ *
Vulnerabilidade	0.12		0.37		0.44		1.20		11.56		22.22	
Mesomorfia	58.63		226.69		126.02		419.56		1771.63		10052.25	

Os maiores valores encontrados na restinga para frequência, lúmen, e comprimento dos vasos, assim como, os maiores valores para comprimento das fibras na floresta, podem ser confirmadas através da Figura 2 A – F para *M. obtusifolia*, Figura 3 A – F para *M. subsericea*, e Figura 4 A – F para *I. laurina*.

5.5.3 Condutividade hidráulica das plantas

A condição hídrica das plantas foi determinada através da condutividade hidráulica teórica (*Kh*). Através dos testes de média foi possível observar que todas as espécies na floresta apresentavam valor de *Kh* significativamente maiores do que os valores encontrados na restinga (Tabela 2). Esses maiores valores de *Kh* na floresta pode ser explicado pelas correlações positivas com o diâmetro tangencial e radial, área do lúmen, e espessura da parede dos vasos (Tabela 3).

Com relação ao índice de vulnerabilidade e mesomorfia, foi observado que as espécies na floresta apresentavam valores superiores aos de restinga. Os valores de vulnerabilidade na floresta variam entre 0.37 e 22.22, e o de mesomorfia entre 226.69 a 10052.25, enquanto na restinga a vulnerabilidade variou entre 0.12 e 11.56, e a mesomorfia entre 58.63 e 1771.63 (Tabela 3). A espécie que apresentou os menores valores para esses índices foi *M. obtusifolia* e a que apresentou os maiores valores foi *I. laurina* (Tabela 2). As análises de correlação de Pearson demonstraram que os maiores valores de vulnerabilidade e mesomorfia na floresta estão positivamente correlacionados aos maiores valores de *Kh* (Tabela 3).

Tabela 3. Correlação de Pearson entre *Kh* e as características funcionais dos elementos de vaso (frequência, comprimento, diâmetro tangencial e radial, lúmen, e espessura da parede), e entre os índices de vulnerabilidade e mesomorfia. Valores de r em negrito indicam diferenças significativas para as correlações ($p \leq 0.05$).

Atributos	Restinga		Floresta	
	r	p	r	p
Frequência de vaso	-0.310	0.260	-0.411	0.128
Comprimento dos vasos	-0.398	0.141	-0.006	0.830
Diâmetro tângencial dos vasos	0.489	0.065	0.722	0.00235
Diâmetro radial dos vasos	0.470	0.077	0.745	0.00145
Lumen dos vasos	0.543	0.036	0.793	0.00043
Espessura da parede dos vasos	0.272	0.327	0.544	0.036
Vulnerabilidade	0.444	0.098	0.767	0.00084
Mesomorfia	0.405	0.232	0.758	0.00105

5.5.4 Análises de plasticidade e integração fenotípica dos atributos funcionais do lenho

A plasticidade fenotípica foi determinada para cada atributo através do índice de plasticidade das distâncias relativas (RDPI). O RDPI varia de 0 a 1, onde valores mais próximos a 1 indicam maior plasticidade fenotípica. Sendo assim, os atributos do lenho que apresentaram maior plasticidade fenotípica em todas as espécies foram frequência, comprimento e área do lúmen dos vasos, lúmen e comprimento das fibras, comprimento do parênquima radial e número de células do parênquima axial (Tabela 4).

Tabela 4. Índice de plasticidade de distâncias relativas (RDPI) para os atributos funcionais do lenho das espécies *M. obtusifolia*, *M. subsericea* e *I. laurina* em respostas as variações ambientais entre os ecossistemas de restinga e floresta.

Atributos	Espécies		
	<i>M. obtusifolia</i> RDPI	<i>M. subsericea</i> RDPI	<i>I. laurina</i> RDPI
Frequência	0.37	0.28	0.24
Comprimento	0.10	0.11	0.47
Diametro tangencial	0.15	0.16	0.15
Diametro radial	0.14	0.18	0.16
Área do lumen	0.27	0.36	0.31
Espessura da parede	0.07	0.10	0.20
Intervascular	0.09	0.13	0.26
Raio-vascular	0.05	0.14	0.23
Parênquima-vascular	0.07	0.08	0.23
Diametro	0.05	0.09	0.41
Lumen	0.11	0.20	0.24
Comprimento	0.10	0.13	0.46
Espessura da parede	0.04	0.06	0.51
Pontoações	0.11	0.08	0.34
Frequência	0.09	0.02	0.17
Comprimento	0.16	0.20	0.22
Largura	0.07	0.11	0.25
Comprimento	0.04	0.20	0.17
N° de células	0.14	0.20	0.21

O índice de integração fenotípica (%IF) foi calculado por espécie, a partir do número de correlações significativas e correlações totais entre todos os atributos funcionais. O %IF varia de 0 a 100% onde valores mais próximos a 100% indicam maior integração dos atributos funcionais para a espécie. A espécie que apresentou maior integração fenotípica nos atributos funcionais do lenho foi *I. laurina* (69.25%), seguida por *M. subsericea* (47.00%) e *M. obtusifolia* (33.75%) (Tabela 5). A regressão linear entre

RDPI e IF demonstraram que todas as espécies apresentaram correlação positiva, porém, apenas para *M. obtusifolia* e *M. subsericea* essa correlação foi significativa (Figura 5)

Tabela 5. Percentual de Integração Fenotípica (%IF) para os atributos funcionais do lenho das espécies *M. obtusifolia*, *M. subsericea* e *I. laurina* em respostas as variações ambientais entre os ecossistemas de Restinga e Floresta.

Espécies			
	<i>M. obtusifolia</i>	<i>M. subsericea</i>	<i>I. laurina</i>
%IF	33.75%	47.00%	69.25%

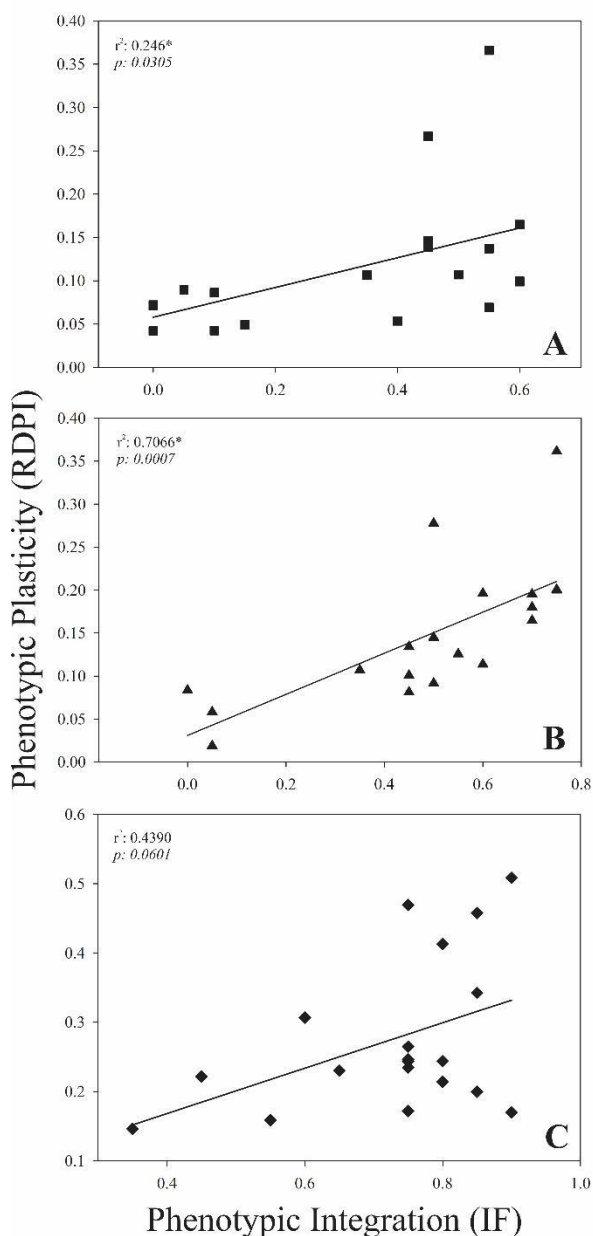


Figura 5. Regressão linear entre o índice de plasticidade das distâncias relativas (RDPI) e a integração fenotípica (IF) para as espécies *M. obtusifolia* (A – quadrado), *M. subsericea* (B – triângulo) e *I. laurina* (C – losango). Cada ponto na análise de regressão representa um atributo. Asterisco indica correlação significativa ($p \leq 0.05$).

5.6 Discussão

Através da caracterização anatômica do lenho foi possível constatar que todas as espécies estudadas apresentaram porosidade difusa. Alves & Angyalossy-Alfonso (2000) destacam que a distribuição difusa dos elementos de vaso é uma característica comum em Angiospermas tropicais. Alguns autores já descreveram o arranjo difuso dos vasos em espécies pertencentes a família Celastraceae, Sapotaceae e Fabaceae, como Prata & Mendonça (2009) em *Maytenus guyanensis* Klotzsch ex Reissek (Celastraceae), Barros et al. (2008) em *Pouteria torta* (Mart.) Ralck. (Sapotaceae), e Medeiros & Stefani (2018) em *Mimosa catharinensis* Burkart (Fabaceae).

Os elementos de vasos organizados em cachos e/ou arranjo radial também é uma característica compartilhada entre as espécies estudadas. A organização dos vasos em grupo, desempenha um importante papel do ponto de vista aclimatativo, uma vez que, vasos agrupados estabelecem rotas alternativas de transporte de água, impedindo que o fluxo hídrico seja comprometido em casos de embolismo (Zimmermann 1983; Evert 2013). A partir disso, se espera que as espécies de restinga apresentem uma maior quantidade de vasos organizados em cachos ou arranjos radiais, visto as condições de menor disponibilidade hídrica. No entanto, para confirmar essa hipótese, serão realizadas análises futuras para avaliar a porcentagem de vasos agrupados e solitário.

A placas de perfuração simples é uma característica já descrita para as famílias Celastraceae, Sapotaceae e Fabaceae (Barros et al. 2008; Prata & Mendonça 2009; Medeiros & Stefani 2018). Segundo Barros et al. (2006), essa é uma tendência comum em espécies ocorrentes em regiões tropicais. O surgimento das placas de perfuração simples nas Angiospermas representa um importante passo evolutivo (Evert 2013), sendo considerada uma das mais importantes alterações estruturais do lenho ao longo da evolução das plantas (Carlquist 2001), devido ao fato de imporem menos resistência ao transporte de água a longa distâncias (Barros et al. 2006; Campbell et al. 2016). A presença de apêndices na extremidade dos vasos é uma característica que tem sido mais empregada com cunho taxonômico (Arruda & Melo-de-Pinna 2004; Cury & Tomazello Filho 2011). Porém, é possível sugerir que esses apêndices ajudam no encaixe mais adequado entre elementos de vasos adjacentes (Evert 2013), contribuindo para uma melhor conexão das placas de perfuração, e conseqüentemente para o transporte longitudinal de água.

A presença de gomas nos elementos de vasos, foi observado apenas para *I. laurina*. De Micco et al. (2016a) destaca que a ocorrência dessas substâncias nos

elementos de vasos é uma característica diagnóstica da família Fabaceae. Isso pode estar relacionado a grande quantidade de parênquima axial do tipo paratraqueal, uma vez, que esses compostos são originados da secreção das células parenquimáticas (Evert 2013). No entanto, a ocorrência de gomas apenas nos vasos dos indivíduos ocorrentes na restinga, refletem uma resposta ao ambiente. Como a oclusão dos vasos com gomas pode estar relacionada a proteção contra embolia (Kitin & Funada 2016), é possível sugerir que a ocorrência dessa substância apenas nos vasos dos indivíduos nas restingas, seja uma estratégia em resposta as condições de baixa disponibilidade hídrica da restinga.

Através das análises dos atributos funcionais do lenho, foi possível observar que as diferenças ambientais contrastantes entre a restinga e floresta obrigaram as espécies a desenvolverem inúmeros ajustes funcionais para co-ocorrerem nesses dois ecossistemas. Desta forma, alterações nas características funcionais dos elementos de vaso, como frequência, comprimento, diâmetro tangencial e radial, área do lúmen, e espessura da parede, representam ajustes aclimatativos das plantas para garantir uma condutividade hidráulica mais segura ou eficiente (Lovisoto & Schubert 1998; Sperry 2003 Ventura et al. 2016; Hacke et al. 2017). Em ambientes onde a disponibilidade de água é escassa, os elementos de vaso tendem a ser mais curtos, estreitos, e com maior frequência (Marques et al. 2015; Campbell et al. 2016; 2018). Esse padrão de resposta está de acordo com o que foi observado para as espécies nas restingas. Como as restingas apresentam uma precipitação reduzida durante a maior parte do ano, e o solo tem uma baixa capacidade de retenção de água, a água passa a ser um recurso limitado nesse ambiente. Sendo assim, as espécies ocorrentes na restinga precisam investir em vasos menores e mais curtos, e em maior quantidade, para evitar a cavitação e manter um balanço hídrico positivo (Jacobsen et al. 2018; Mrad et al. 2018). Por outro lado, como as áreas de florestas, tem uma maior disponibilidade hídrica em relação a restinga, as espécies ocorrentes nesse ambiente apresentaram elementos de vasos mais largos e compridos, propiciando uma condutividade hidráulica mais eficiente, porém menos segura (Poorter et al. 2009; Rungwattana & Hietz 2017).

A maior espessura das pontoações intervasculares, raio-vasculares e parênquima-vasculares na restinga, é um indicativo de que essas espécies investiram em transporte lateral (Halis et al. 2018). No entanto, pontoações maiores implicam em *trade-off* entre um transporte lateral de água mais eficiente e maiores chances de sofrer cavitação (Li et al. 2019). Como a restinga apresentam uma disponibilidade hídrica inferior a floresta, seria incoerente as espécies apresentarem pontoações maiores na restinga, uma vez, que

as tornariam mais propensas a sofrerem cavitação. Porém, algumas espécies em condições de seca apresentam membranas das pontuações mais espessas, o que seria um fator determinante de resistência a cavitação (Li et al. 2016). Segundo Lens et al. (2013), essas membranas podem atuar como válvulas de segurança impedindo a movimentação das bolhas de ar pela planta. Nesse sentido, são necessários análises adicionais para verificar se as espécies de restingas apresentam um maior espessamento dessas membranas, o que ajudaria a explicar os maiores valores encontrados para as pontuações na restinga.

As fibras apresentam tendências de respostas semelhantes aos elementos de vaso em função da disponibilidade de água no ambiente. Em ambientes méxicos, as fibras apresentam maior diâmetro e comprimento, propiciando uma melhor condutividade hidráulica, em contrapartida, e em ambientes xéricos, o diâmetro e comprimento das fibras tendem a ser menor, para garantir uma maior segurança do transporte hídrico (De Micco et al. 2016b). Isso permite explicar os maiores valores encontrados para o diâmetro, área do lúmen e comprimento das fibras na floresta, e menores na restinga.

A maior frequência, comprimento e largura do parênquima radial na restinga, refletem um maior investimento das espécies em estratégias que favoreçam o transporte e armazenamento de água e nutrientes (Carlquist 2001; Campbell et al. 2018). Além disso, outros autores têm atribuído ao parênquima radial a função de acúmulo de moléculas osmorreguladoras, como carboidratos não-estruturais (von Arx et al. 2017), e fotoprotetoras, como compostos fenólicos (Chen et al. 2018). Nesse sentido, o parênquima radial desempenha um papel importante para a aclimatação das espécies na restinga, uma vez, que apresentam funcionalidade que ajudam as plantas a suportarem as condições de escassez hídrica e nutricional, e de altas irradiâncias da restinga.

O parênquima axial desempenha funções semelhantes ao parênquima radial, no entanto, são mais especializados no armazenamento e reestabelecimento do fluxo de água (Carlquist 2001; James et al. 2003). Adicionalmente, Morris et al. (2016) mostraram que a porcentagem de parênquima axial tende a aumentar consideravelmente em ambientes com temperaturas mais elevadas. Sendo assim, é possível sugerir que os maiores valores de comprimento e número de células do parênquima axial na restinga, pode representar ajustes não apenas as variações na disponibilidade hídrica, mas também as condições de altas temperatura.

A condutividade hidráulica teórica (K_h) está diretamente relacionada ao diâmetro dos elementos de vasos. Segundo a lei de Hagen-Poiseuille, quanto maior o diâmetro dos

vasos, maior será a condutividade hidráulica das plantas, ao passo que, vasos menores diminuem acentuadamente a capacidade de transporte de água (Schuldt et al. 2016; Rungwattana & Hietz 2017). Sendo assim, os maiores valores de Kh encontrados para as espécies na floresta, podem ser explicados pelas correlações positivas com o diâmetro tangencial e radial, área do lúmen e espessura da parede dos vasos. Em contrapartida, os menores valores de Kh na restinga estão relacionados a vasos com menores calibres. Esses resultados demonstram uma estratégia adaptativa das espécies para suportarem as diferenças na disponibilidade hídrica entre esses dois ambientes. A restinga por ser um ambiente mais seco, as espécies ficam mais vulneráveis a embolia. Nessa condição é comum as plantas investirem em vasos de menor calibre, para diminuir os riscos de formação de bolhas de ar (Hacke et al. 2006), o que representa um *trade-off* entre segurança e eficiência hidráulica (Poorter et al. 2010). Por outro lado, como a floresta apresenta um aporte hídrico maior, as plantas não necessitam investir em segurança hidráulica, podendo apresentar vasos maiores que favorecerem uma condutividade hidráulica mais eficiente (Sperry et al. 2006).

Os índices de vulnerabilidade e mesomorfia corroboraram com os dados obtidos para a condutividade hidráulica teórica (Kh), e também demonstraram que as espécies na restinga investiram em maior segurança hidráulica. O índice de vulnerabilidade é a razão entre a frequência e diâmetro dos vasos, onde valores abaixo de 1 são indicativos de menores propensões das espécies de sofrerem embolia (Carlquist 1977; 2001). Os resultados mostraram que as espécies na restinga, com exceção de *I. laurina*, eram menos vulneráveis a sofrer embolia, uma vez que apresentaram vasos menores e em maior frequência, o que diminui os riscos de propagação das bolhas de ar (Hacke et al. 2006).

O índice de mesomorfia mostra que espécies com valores superiores a 200 são consideradas mesomórficas (Carlquist 1977; 2001). Os resultados demonstraram que as espécies na restinga, exceto *I. laurina*, apresentavam caráter xeromórfico em termos de estrutura do xilema, refletindo as condições de escassez hídrica da restingas. Apesar da espécie *I. laurina* apresentar valores altos para vulnerabilidade e mesomorfia em ambas as áreas, é possível observar que os valores para esses índices na restinga são inferiores aos de floresta, demonstrando que essa espécie na restinga é menos susceptível a sofrer embolia quando comparada aos indivíduos na floresta.

O índice de plasticidade das distâncias relativas (RDPI) foi empregado para determinar a plasticidade fenotípica de cada atributo, com base nas distâncias fenotípicas entre indivíduos de uma determinada espécie expostas a diferentes condições ambientais

(Valladares et al. 2006). A partir dessas análises foi possível observar que os atributos que apresentaram maior plasticidade fenotípica (comprimento e lúmen dos vasos, lúmen e comprimento das fibras, comprimento e número de células do parênquima radial e axial) estão relacionados principalmente as estratégias de segurança hidráulica e de transporte e armazenamento de água (De Micco et al. 2016; Hacke et al. 2017; Campbell et al. 2018). A partir desses resultados é possível afirmar que a menor disponibilidade hídrica na restinga, obrigaram as espécies a ajustarem os atributos funcionais do lenho para co-ocorrerem nas duas áreas.

As análises de integração fenotípica (%IF) representa as correlações funcionais entre diferentes atributos das plantas (Pigliucci 2003; Pigliucci & Preston 2004), e pode atuar conferindo uma maior adaptabilidade, sem os custos da expressão de atributos não-adaptativos e/ou desadaptativos (van Kleunen & Fischer 2005; Poot & Lambers 2008).

Os resultados mostraram que *I. laurina* foi a espécie que apresentou maior integração fenotípica (%IF = 69.25%), e correlações não significativas entre RDPI e IF. A partir desses resultados, é possível sugerir que a integração dos atributos funcionais do lenho de *I. laurina* contribuíram mais para sua aclimação as condições de restinga, do que os ajustes de atributos independentes. Por outro lado, para *M. obtusifolia* (%IF = 33.75%) e *M. subsericea* (%IF = 47.00%), a correlação entre RDPI e IF foi positiva, o que permite sugerir que a aclimação dessas espécies envolveu processos de integração e plasticidade fenotípica. Apesar de alguns autores demonstrarem empiricamente a correlação negativa entre a plasticidade e integração fenotípica (Gianoli 2004; Gianoli & Palacio-López 2009). Godoy et al. (2012) defende que ambos os processos podem favorecer na adaptação das plantas.

5.7 Conclusão

As espécies para co-ocorrerem na restinga e floresta precisaram ajustar e/ou integrar inúmeros atributos do lenho, em virtude das diferenças na disponibilidade hídrica entre as duas áreas. Os principais atributos que contribuíram para a aclimação das espécies foram: comprimento e lúmen dos vasos, lúmen e comprimento das fibras, comprimento e número de células do parênquima radial e axial. Os resultados confirmaram a hipótese de que as espécies na restinga, em resposta ao menor aporte hídrico, investiram principalmente em atributos que confirmam uma maior segurança hidráulica, em quanto, as espécies na floresta investiriam em uma maior eficiência hídrica. Além disso, foi possível concluir, que para a maioria dos atributos, há um padrão de resposta comum das

espécies em relação ao ambiente, onde as espécies na restinga investiram principalmente em atributos que evitem a embolia e favoreçam o transporte lateral de água, enquanto as espécies na floresta investiram em eficiência hidráulica. O presente trabalho demonstrou que a identificação dos principais atributos funcionais do lenho ajudou na compreensão de como as espécies conseguem co-ocorrerem em ambientes contrastantes, no que tange a disponibilidade hídrica. Além de ter levantando informações que podem aumentar a probabilidade de sucesso em ações de restauração ecológicas, a fim de se obter uma provisão adequada dos serviços ecossistêmicos.

Acknowledgments: This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); and Fundação de Amparo à Pesquisa do Rio de Janeiro (FAPERJ); Centro Multiusuário CME-LBCT for the infrastructure provided; B. F. Ribeiro for technical work in laboratory of LBCT/CBB/UENF. This study is a part of the PhD. degree thesis of S. P. carried out at the UENF.

5.8 Referências

- Abreu, K. M. P., Braga, J. M. A., & Nascimento, M. T. (2014). Tree species diversity of coastal lowland semideciduous forest fragments in northern Rio de Janeiro state, Brazil. *Bioscience Journal*, 30(5).
- Alvares, C. A., Stape, J. L., Sentelhas, P. C., de Moraes, G., Leonardo, J., & Sparovek, G. (2013). Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, 22(6), 711-728.
- Alves, E. S., & Angyalossy-Alfonso, V. (2000). Ecological trends in the wood anatomy of some Brazilian species. 1. Growth rings and vessels. *IWA Journal*, 21(1), 3-30.
- Araujo, D.S.D. (2000). Ecologia de Restingas e Lagoas Costeiras. Publicado por: NUPEM/UFRJ Macaé, RJ.
- Arruda, E. C. P., Alves, M., & Melo-de-Pinna, G. F. (2004). Elementos traqueais de cinco táxons de Cactaceae da caatinga pernambucana, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 18(4), 731-736.
- Assumpção, J., & Nascimento, M. T. (2000). Estrutura e composição florística de quatro formações vegetais de restinga no complexo lagunar Grussaí/Iquipari, São João da Barra, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 14(3), 301-315.
- Barros, C. F., Marcon-Ferreira, M. L., Callado, C. H., Lima, H. R. P., da Cunha, M., Marquete, O., & Costa, C. G. (2006). Tendências ecológicas na anatomia da madeira de espécies da comunidade arbórea da Reserva Biológica de Poço das Antas, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia*, 443-460.
- Barros, C. F., Callado, C. H., Da Cunha, M., Ferreira, M. L. M., Tamaio, N., Marquete, O., Costa, C. G. (2008). Madeiras da Mata Atlântica: anatomia do lenho de espécies ocorrentes nos remanescentes

- florestais do Estado do Rio de Janeiro. Volume III. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 103p.
- Bradshaw, A. D. (1965). Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. In *Advances in genetics* (Vol. 13, pp. 115-155). Academic Press.
- Burger, L., & Richter, H. G. (1991). Anatomía da madeira Sao Paulo: nobel, 154p.
- Campbell, G., Rabelo, G. R., & Cunha, M. D. (2016). Ecological significance of wood anatomy of *Alseis pickelii* Pilg. & Schmale (Rubiaceae) in a Tropical Dry Forest. *Acta Botanica Brasilica*, 30(1), 124-130.
- 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.
- Carlquist, S. (1977). Ecological factors in wood evolution: a floristic approach. *American Journal of Botany*, 64(7), 887-896.
- Carlquist, S. (2001). Comparative wood anatomy: Systematic, ecological and evolutionary aspects of dicotyledon wood. 2nd. edn. London, Springer-Verlag.
- Chen, S. Y., Yen, P. L., Chang, T. C., Chang, S. T., Huang, S. K., & Yeh, T. F. (2018). Distribution of Living Ray Parenchyma Cells and Major Bioactive Compounds During the Heartwood Formation of *Taiwania cryptomerioides* Hayata. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 38(2), 84-95.
- Cury, G., & Tomazello Filho, M. (2011). Descrição anatômica de espécies de madeira utilizadas na construção civil. *Floresta e Ambiente*, 18(3), 227-236.
- De Micco, V., Balzano, A., Wheeler, E. A., & Baas, P. (2016a). Tyloses and gums: a review of structure, function and occurrence of vessel occlusions. *IAWA Journal*, 37(2), 186-205.
- De Micco, V., Battipaglia, G., Balzano, A., Cherubini, P., & Aronne, G. (2016b). Are wood fibres as sensitive to environmental conditions as vessels in tree rings with intra-annual density fluctuations (IADFs) in Mediterranean species?. *Trees*, 30(3), 971-983.
- Embrapa, (1997). Manual de métodos de análise de solo / Centro Nacional de Pesquisa de Solos, second ed. Rio de Janeiro, Brazil.
- Evert, R. F. (2013). Anatomia das plantas de Esau: meristemas, células e tecidos do corpo da planta: sua estrutura, função e desenvolvimento. 3th ed. Blücher Ltda.
- 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.
- Fundação SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. (2019). Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica. Acessado em 22/01/2019.
- Garay, I., Noronha, F., Moraes, V. D. (2008). Raízes finas nos horizontes do topo do solo em relação a atividades extrativistas em fragmentos de Floresta Atlântica de Tabuleiros. Sooretama, ES. *Floresta e ambiente* 15: 34-48.
- Gianoli, E. (2004). Plasticity of traits and correlations in two populations of *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae) differing in environmental heterogeneity. *International Journal of Plant Sciences*, 165(5), 825-832.

- Gianoli, E., & PalacioLópez, K. (2009). Phenotypic integration may constrain phenotypic plasticity in plants. *Oikos*, *118*(12), 1924-1928.
- Godoy, O., Valladares, F., & CastroDíez, P. (2012). The relative importance for plant invasiveness of trait means, and their plasticity and integration in a multivariate framework. *New Phytologist*, *195*(4), 912-922.
- Hacke, U. G., Sperry, J. S., Wheeler, J. K., & Castro, L. (2006). Scaling of angiosperm xylem structure with safety and efficiency. *Tree Physiology*, *26*(6), 689-701.
- Hacke, U. G., Spicer, R., Schreiber, S. G., & Plavcová, L. (2017). An ecophysiological and developmental perspective on variation in vessel diameter. *Plant, Cell & Environment*, *40*(6), 831-845.
- Halis, Y., Benhaddya, M. L., Bensaha, H., & Senoussi, M. M. (2018). How do newly matured vessels start conducting water? The significance of lateral pathways for connecting newly matured vessels to the transpiration stream. *Tree Physiology*. Falta o volume e pagina
- Hollander, M., Wolfe, D.A., 1973. Nonparametric statistical methods, New York: John Wiley & Sons, Inc.
- INEA (Instituto Estadual do Ambiente), 2011. Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba. <http://www.inea.rj.gov.br/unidades/eeguaxindiba.asp> (accessed 28 august de 2011).
- IAWA Committee. 1989. List of microscopic feature of hardwood identification. *IAWA Bulletin* 10: 219-332.
- Jacobsen, A. L., Pratt, R. B., Venturas, M. D., & Hacke, U. G. (2018). Large volume vessels are vulnerable to water-stress-induced embolism in stems of poplar. *IAWA Journal*, *1*(aop), 1-S4.
- James, S. A., Meinzer, F. C., Goldstein, G., Woodruff, D., Jones, T., Restom, T., & Campanello, P. (2003). Axial and radial water transport and internal water storage in tropical forest canopy trees. *Oecologia*, *134*(1), 37-45.
- Johansen, D. A. (1940). *Plant microtechnique*. McGraw-Hill Book Company, Inc.; London.
- Joly, C. A., Leitão Filho, H. F., & Silva, S.M. (1991). O patrimônio florístico. In *Mata Atlântica* (I.G. Câmara, coord.). Index/Fundação SOS Mata Atlântica, São Paulo. 97–125p.
- Kitin, P., & Funada, R. (2016). Earlywood vessels in ring-porous trees become functional for water transport after bud burst and before the maturation of the current-year leaves. *Iawa Journal*, *37*(2), 315-331.
- Kraus, J. E., & Arduin, M. (1997). Manual básico de métodos em morfologia vegetal (Vol. 1). Rio de Janeiro: Edur.
- Lens, F., Tixier, A., Cochard, H., Sperry, J. S., Jansen, S., & Herbette, S. (2013). Embolism resistance as a key mechanism to understand adaptive plant strategies. *Current Opinion in Plant Biology* *16*, 287–292.
- Li, S., Lens, F., Espino, S., Karimi, Z., Klepsch, M., Schenk, H. J., & Jansen, S. (2016). Intervessel pit membrane thickness as a key determinant of embolism resistance in angiosperm xylem. *IAWA Journal*, *37*(2), 152-171.
- Li, S., Hao, G. Y., Niinemets, Ü., Harley, P. C., Wanke, S., Lens, F., ... & Cao, K. F. (2019). The effects of intervessel pit characteristics on xylem hydraulic efficiency and photosynthesis in hemiepiphytic and nonhemiepiphytic *Ficus* species. *Physiologia Plantarum*. falta

- Lovisoló, C., & Schubert, A. (1998). Effects of water stress on vessel size and xylem hydraulic conductivity in *Vitis vinifera* L. *Journal of Experimental Botany*, 49(321), 693-700.
- Marques, J. B., Callado, C. H., Rabelo, G. R., Silva Neto, S. J. D., & Cunha, M. D. (2015). Comparative wood anatomy of species of Psychotria L. (Rubiaceae) in Atlantic Rainforest remnants of Rio de Janeiro State, Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, 29(3), 433-444.
- Mau, A. C., Reed, S. C., Wood, T. E., & Cavaleri, M. A. (2018). Temperate and Tropical Forest Canopies are Already Functioning beyond Their Thermal Thresholds for Photosynthesis. *Forests*, 9(1), 47.
- Mrad, A., Domec, J. C., Huang, C. W., Lens, F., & Katul, G. (2018). A network model links wood anatomy to xylem tissue hydraulic behavior and vulnerability to cavitation. *Plant, Cell & Environment*, 41(12), 2718-2730.
- Medeiros, J. D., & Stefani, M. R. (2018). Anatomia da madeira de Mimosa catharinensis Burkart (Leguminosae–Mimosoideae). *Biotemas*, 31(1), 11-19.
- Morris, H., Plavcová, L., Cvecko, P., Fichtler, E., Gillingham, M. A., Martínez-Cabrera, H. I., & Jansen, S. (2016). A global analysis of parenchyma tissue fractions in secondary xylem of seed plants. *New Phytologist*, 209(4), 1553-1565.
- Nardini, A., Savi, T., Trifilò, P., & Gullo, M. A. L. (2017). Drought stress and the recovery from xylem embolism in woody plants. In *Progress in Botany Vol. 79* (pp. 197-231). Springer, Cham.
- Pigliucci, M. (2003). Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. *Ecology Letters*, 6(3), 265-272.
- Pigliucci, M., & Preston, K. (Eds.). (2004). Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. Oxford University Press.
- Poorter, L., McDonald, I., Alarcón, A., Fichtler, E., Licona, J. C., Peña-Claros, M., & Sass-Klaassen, U. (2010). The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New Phytologist*, 185(2), 481-492.
- Poot, P., & Lambers, H. (2008). Shallow-soil endemics: adaptive advantages and constraints of a specialized root-system morphology. *New Phytologist*, 178(2), 371-381.
- Prata, R. R., & Mendonca, M. D. (2009). Estudo anatômico do xilema secundário da raiz e do caule de *Maytenus guyanensis* Klotzsch ex. Reissek (Celastraceae). *Acta Amazonica*, 39(2), 261-266.
- Radambrasil. (1983). Rio de Janeiro/Vitória; Geologia, Geomorfologia, Pedologia, Vegetação e Uso Potencial da Terra-SF. 23/24.
- Rosado, B. H. P., & de Mattos, E. A. (2007). Variação temporal de características morfológicas de folhas em dez espécies do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Macaé, RJ, Brasil. *Acta Botânica Brasílica*, 21(3), 741-752.
- Rungwattana, K., & Hietz, P. (2018). Radial variation of wood functional traits reflect size-related adaptations of tree mechanics and hydraulics. *Functional Ecology*, 32(2), 260-272.
- Scarano, F. R. (2002). Structure, Function and Floristic Relationships of Plant Communities in Stressful Habitats Marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. *Annals of Botany* 90: 517-524.
- Shapiro, S. S., & Wilk, M. B. (1965). An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52(3/4), 591-611.

- Schlichting, C. D. (1986). The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 17(1), 667-693.
- Schlichting, C. D., & Pigliucci, M. (1998). *Phenotypic evolution: a reaction norm perspective*. Sinauer Associates Incorporated.
- Scholz, A., Klepsch, M., Karimi, Z., & Jansen, S. (2013). How to quantify conduits in wood? *Frontiers in Plant Science*, 4, 56.
- Schuldt, B., Knutzen, F., Delzon, S., Jansen, S., Müller-Haubold, H., Burlett, R., & Leuschner, C. (2016). How adaptable is the hydraulic system of European beech in the face of climate change-related precipitation reduction?. *New Phytologist*, 210(2), 443-458.
- Schwinning, S., & Ehleringer, J. R. (2001). Water use trade-offs and optimal adaptations to pulse-driven arid ecosystems. *Journal of Ecology*, 89(3), 464-480.
- Sloboda, B., Marques, R., Bianchin, J., Blum, H., Donha, C., Silveira, F., & Capretz, R. (2017). Litterfall and Nutrient Dynamics in a Mature Atlantic Rainforest in Brazil. *Floresta e Ambiente*, 24.
- Sperry, J. S. (2003). Evolution of water transport and xylem structure. *International Journal of Plant Sciences*, 164(S3), S115-S127.
- Sperry, J. S., & Tyree, M. T. (1990). Water-stress-induced xylem embolism in three species of conifers. *Plant, Cell & Environment*, 13(5), 427-436.
- Sperry, J. S., Hacke, U. G., & Pittermann, J. (2006). Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. *American Journal of Botany*, 93(10), 1490-1500.
- Sterck, F. J., Zweifel, R., Sass-Klaassen, U., & Chowdhury, Q. (2008). Persisting soil drought reduces leaf specific conductivity in Scots pine (*Pinus sylvestris*) and pubescent oak (*Quercus pubescens*). *Tree Physiology*, 28(4), 529-536.
- Statsoft (1993) Statistica: Statsoft for windows: General conventions and statistics I. User's Handbook. Tulsa, Microsoft Corporation.
- Sultan, S. E. (2000). Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science*, 5(12), 537-542.
- Tukey, J.W., 1953. The problem of multiple comparisons. Unpublished manuscript. Princeton University
- 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 rainforest. *Ecology*, 81(7), 1925-1936.
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D. A. V. I. D., & Zavala, M. A. (2006). Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, 94(6), 1103-1116.
- Valladares, F., Gianoli, E., & Gómez, J. M. (2007). Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytologist*, 176(4), 749-763.
- van Kleunen, M., & Fischer, M. (2005). Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist*, 166(1), 49-60.
- Venturas, M. D., Rodriguez-Zaccaro, F. D., Percolla, M. I., Crous, C. J., Jacobsen, A. L., & Pratt, R. B. (2016). Single vessel air injection estimates of xylem resistance to cavitation are affected by vessel network characteristics and sample length. *Tree Physiology*, 36(10), 1247-1259.

- Villela, D. M., Nascimento, M. T., de Aragao, L. E. O., & Da Gama, D. M. (2006). Effect of selective logging on forest structure and nutrient cycling in a seasonally dry Brazilian Atlantic forest. *Journal of Biogeography*, 33(3), 506-516.
- von Arx, G., Arzac, A., Fonti, P., Frank, D., Zweifel, R., Rigling, A., ... & Olano, J. M. (2017). Responses of sapwood ray parenchyma and non-structural carbohydrates of *Pinus sylvestris* to drought and long-term irrigation. *Functional Ecology*, 31(7), 1371-1382.
- Zar, J.H., (1996). *Biostatistical Analysis*. third ed. Prentice Hall, New Jersey.
- Zimmermann, M. H., (1983). *Xylem structure and the ascent of sap*. Springer-Verlag, Berlin.

5.9 Material Suplementar

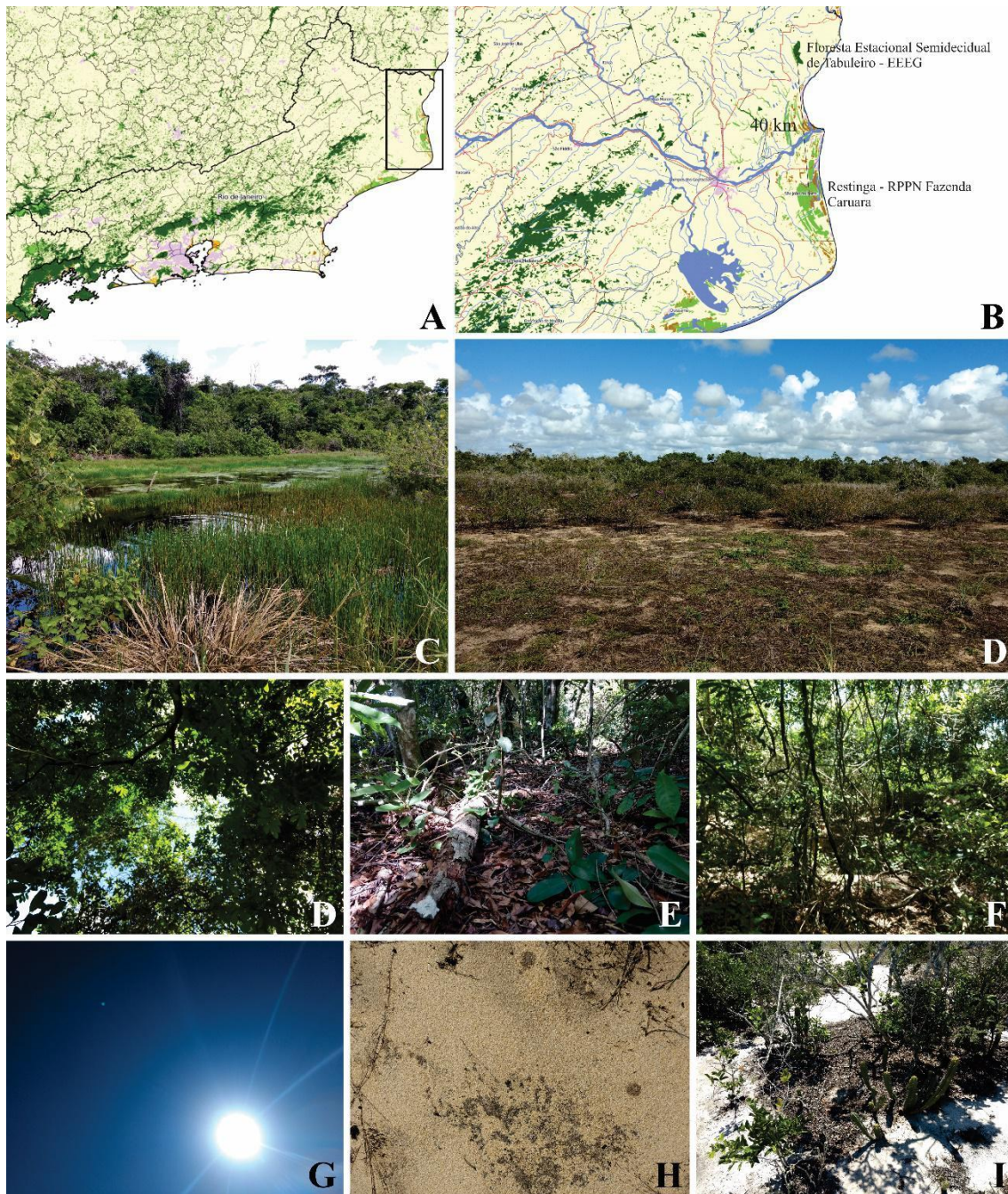


Figura S1. Caracterização da área de estudo. A – Mapa do estado do Rio de Janeiro demonstrando a localização da Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba – EEEG (floresta) e da RPPN Fazenda Caruara (restinga) (SOS Fundação Mata Atlântica 2019). B – Mapa demonstrando a distância (± 40 m) entre a EEEG (floresta) e RPPN Fazenda Caruara (Restinga) (SOS Fundação Mata Atlântica 2019). C – Visão geral da floresta (EEEG). D – Visão geral da restinga (RPPN Fazenda Caruara). D – Detalhe do dossel da floresta. E – Detalhe do solo na floresta. F – Detalhe do adensamento da vegetação na floresta. G – Ausência do dossel na restinga. H – Detalhe do solo arenoso da restinga. I – Vegetação de moita espaçada na restinga. As imagens D a I pertence ao acervo pessoal do autor.



Figura S2. Espécies estudadas. *Maytenus obtusifolia* na floresta (A) e restinga (D); *Manilkara subsericea* na floresta (B) e restinga (E); *Inga laurina* na floresta (C) e restinga (F). Acervo pessoal.

Tabela S1. Valores médios do diâmetro altura do peito (DAP), altura dos indivíduos, e forma de vida das espécies estudadas.

Espécie	Ecossistema	Forma de vida	DAP (cm)	Altura (m)
<i>M. obtusifolia</i>	Restinga	arbusto e árvore	13.6	2.0
	Forest		27.0	4.4
<i>M. subsericea</i>	Restinga	arbusto e árvore	26.2	2.6
	Forest		32.0	5.0
<i>I. laurina</i>	Restinga	árvore	34.2	2.4
	Forest		67.0	9.2

6. Considerações finais

“Aproximadamente 60% das espécies listadas para as restingas do Rio de Janeiro são originadas de outras fitofisionomias ocorrentes no estado, como inselbergs costeiros e florestas estacionais semidecíduas.” – retirado de Araujo 2000.

A influência de outros ecossistemas da Mata Atlântica na composição da vegetação de restinga é uma proposta bem aceita pela comunidade científica. No entanto, pouco se sabe a respeito de como espécies, oriundas de outras fitofisionomias da Mata Atlântica, se adaptaram as condições microclimáticas e edáficas peculiares das restingas. Nesse sentido, a presente tese buscou compreender os principais atributos funcionais das folhas e do lenho que permitiram com que espécies co-ocorressem na restinga e Floresta Estacional Semidecidual.

Os resultados demonstraram que as espécies *M. obtusifolia*, *M. subsericea* e *I. laurina* na restinga investiram na construção de folhas mais espessas e esclerificadas, para favorecer um melhor armazenamento e retenção da água. Além disso, apresentaram estômatos menores, porém em maior quantidade, para obter respostas mais rápidas de abertura e fechamento estomático (condutância estomática - g_s), e evitar a perda excessiva de água por evapotranspiração (taxa de transpiração - E), sem comprometer o desempenho fotossintético (taxa de assimilação de CO_2 - A). Esse maior controle da abertura e fechamento estomático nas restingas, repercutiram diretamente sobre os maiores sinais isotópicos de ^{13}C , demonstrando que as espécies na restinga fizeram um uso mais eficiente de água. Adicionalmente, os maiores acúmulos de moléculas osmorreguladoras (carboidratos e prolina) nas folhas das espécies na restinga são estratégias para evitar a plasmólise celular, enquanto as maiores concentrações de fenóis e flavonoides, representam uma estratégia para suportar as condições de altas irradiâncias, evitando o superaquecimento do protoplasto e danos no DNA e proteínas. A partir desses resultados foi possível observar que as espécies na restingas investiram principalmente em atributos que confirmam uma maior aclimação das espécies as condições de altas irradiâncias e a menor disponibilidade hídrica.

As diferenças na disponibilidade hídrica entre a restinga e Floresta Estacional Semidecidual também influenciaram as características funcionais do lenho. As espécies na floresta investiram na construção de elementos mais largo, para favorecer uma condutividade hídrica (K_p) mais eficiente. No entanto, como na restinga a disponibilidade hídrica é menor, as espécies ficam mais vulneráveis a embolia, e passa a apresentar vasos menores para evitar a formação de bolhas de ar. Porém, com a redução dos vasos na

restinga a condutividade hídrica é prejudicada, em função de um fluxo hídrico mais seguro. Além disso, o maior investimento em parênquima radial e axial na restinga representou uma estratégia para propiciar o transporte lateral de água, para estabelecer rotas alternativas para desviar de possíveis bolhas de ar formadas nos vasos, e armazenar moléculas osmorreguladoras, como carboidratos não estruturais. Esses resultados demonstraram que a arquitetura do lenho das espécies na restinga está toda estruturada para conferir uma maior segurança hidráulica e permanência do fluxo hídrico.

A partir desse estudo, foi possível compreender as principais estratégias adaptativas da folha e do lenho que capacitaram as espécies a co-ocorrerem em ecossistema de restinga e floresta. No entanto, são necessários estudos mais amplos, em nível de comunidade, para ampliar os conhecimentos sobre a consolidação da vegetação de restinga.

7. Referências Bibliográficas

Abreu, K.M.P., Braga, J.M.A., Nascimento, M.T., 2014. Tree species diversity of coast allows land semideciduous forest fragments in northern Rio de Janeiro state, *Brazil. Biosci. J.* 30: 1529–1550.

Aguiar, W.M., Gaglianone, M.C., 2008. Comunidade de Abelhas Euglossina (Hymenoptera: Apidae) em Remanescentes de Mata Estacional Semidecidual sobre Tabuleiro no Estado do Rio de Janeiro. *Ecology, Behavior and Bionomics*. Campos dos Goytacazes, RJ. P 119.

Alpert, P. & Simms, E., 2002. The relative advantages of plasticity and fixity in different environments: when is it good for a plant to adjust? *Evolutionary Ecology* 16: 285–297.

Alves, M.A.S., Pacheco, J.F., Gonzaga, L.A.P., Cavalcanti, R.B., Raposo, M.A., Yamashita, C., Maciel, N.C. Castanheira, M., 2000. Aves. Em: *A Fauna Ameaçada de Extinção do Estado do Rio de Janeiro*. Bergallo, H.G., Rocha, C.F., Alves, M.A. and Van Sluys, M. (Eds.) Rio de Janeiro: Ed. UERJ, 113–124p.

Amaral, D.D., Jardim, M.A.G., Costa-Neto, S.V., do Carmo Bastos, M.D.N., 2015. Síndromes de dispersão de propágulos e a influência da floresta amazônica na composição de espécies lenhosas de uma restinga no litoral norte brasileiro. *Biota Amazônia* 5: 28-37.

Andrade, M.A.B., 1967. Contribuição ao conhecimento da ecologia das plantas das dunas do litoral do estado de São Paulo. *Boletim da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, Botânica*. 22, 3–170.

Angulo, R.J., Lessa, G.C., de Souza, M.C., 2006. A critical review of mid-to late-Holocene sea-level fluctuations on the eastern Brazilian coastline. *Quaternary science reviews* 25: 486-506.

Araujo, D.S.D., 1997. Cabo Frio Region. In : Davis, S.D.; Heywood, V.H.; Herrera-MacBryde, O.; Villa-Lobos, J. & Hamilton, A.C. (eds.). *Centres of plant diversity: a guide and strategy for their conservation*. Vol. 3: The Americas. IUCN Publications Unit, Cambridge, 373–375p.

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

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

- Araujo, D. & Oliveira, R., 1988.** Reserva Biológica Estadual da Praia do Sul (Ilha Grande, Estado do Rio de Janeiro): lista preliminar da flora. *Acta Botanica Brasilica* 1, 83–94.
- Araujo, D.S.D. & Maciel, N.C., 1998.** Restingas fluminenses: biodiversidade e preservação. *Boletim FBCN* 25: 27–51.
- Assumpção, J.A.N., 1998.** Caracterização estrutural, fisionômica e florística da vegetação de restinga do Complexo Lagunar Grussaí/Iquipari – São João da Barras, RJ. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Recursos Naturais) – Campos dos Goytacazes – Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF.
- Assumpção, J.A.N. & Nascimento, M.T., 2000.** Estrutura e composição florística de quatro formações vegetais de restinga no complexo lagunar Grussaí/Iquipari, São João da Barra, R.J, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 14: 301–315.
- Bradshaw, A.D., 1965.** Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. *In* Advances in genetics. (E.M. Caspary & J.M. Thoday, eds.). Academic Press, New York, 115–155p.
- Brakker, T.W., Wergin, W.P., Erbe, E.F., Harnden, J.M., 1993.** Seasonal Variation in the Structure and Red Reflectance of Leaves from Yellow Poplar, Red Oak, and Red Maple. *Remote Sens. Environ.* 43:115–130.
- Campbell, G., Rabelo, G.R., Cunha, M.D., 2016.** Ecological significance of wood anatomy of *Alseis pickelii* Pilg. & Schmale (Rubiaceae) in a Tropical Dry Forest. *Acta Botanica Brasilica* 30: 124-130.
- 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.
- Carvalho, D.A. & Sá, C.F.C., 2011.** Estrutura do estrado herbáceo de uma restinga arbustiva aberta na APA de Massambaba, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 62: 367–378.
- Castiglioni, G.D.A., Cunha, L.S.T., Gonzaga, L.P., 1995.** *Ramphocelus bresilius* como dispersor das sementes de plantas da restinga de Barra de Maricá, Estado do Rio de Janeiro (Passeriformes: Emberizidae). *Ararajuba* 3(1).
- Castro, A.S.F., Moro, M.F., Menezes, M.O.T., 2012.** O Complexo Vegetacional da Zona Litorânea no Ceará: Pecém, São Gonçalo do Amarante. *Acta Botanica Brasilica* 26: 108-124.

- Chazdon, R.L., Percy, R.W., 1991.** The importance of sunflecks for forest understory plants. *Bioscience* 41: 760–766.
- Cirne, P., Zaluar, H.L.T., Scarano, F.R., 2003.** Plant diversity, interspecific associations, and postfire resprouting on a sandy spit in a Brazilian coastal plain. *Ecotropica* 9: 33–38.
- Costa, C.S.B., Seeliger, U., Cordazzo, C.V., 1984.** Aspectos da ecologia populacional do *Panicum racemosum* (Spreng) nas dunas costeiras do Rio Grande do Sul, Brasil. In: L. D. Lacerda; D. S. D. Araujo; R. Cerqueira; B. Turcq (Eds.) Restingas: Origem, Estrutura e Processos. CEUFF, Niterói, 395–411p.
- Couto, D.R., Uribe, F.P., Jacques, S.S., Fracisco, T.M., Lopes, R.C., 2017.** Vascular epiphytes in the Grumari restinga, RJ: floristic and similarities between restingas in Eastern Brazil. *Rodriguésia* 68: 337-346.
- Dominguez, J.M.L., 2006.** The coastal zone of Brazil: an overview. *J. Coast. Res.* 39: 16–20.
- Ecologus Engenharia Consultiva, 2011.** RIMA - Relatório de impacto ambiental - Infra-estruturas do distrito industrial de São João da Barra. LLX, 41p.
- Eisenlohr, P.V., Oliveira-Filho, A.T., Prado, J., 2015.** The Brazilian Atlantic Forest: new findings, challenges and prospects in a shrinking hotspot. *Biodiversity and Conservation* 24: 2129–2133.
- Estevan, D.A., Vieira, A.O.S., Gorenstein, M.R., 2016.** Estrutura e relações florísticas de um fragmento de floresta estacional semidecidual, Londrina, Paraná, BRASIL. *Ciência Florestal* 26:713-725.
- Falkenberg, D.B., 1999.** Aspectos da flora e da vegetação secundária da restinga de Santa Catarina, Sul do Brasil. *Insula* 28: 1–30.
- Farquhar, G., O’Leary, M., Berry, J., 1982.** On the relationship between carbon isotope discrimination and the intercellular carbon dioxide concentration in leaves. *Aust. J. Plant Physiol.* 9: 121–137.
- Fazolato, C., Fernandes, F., Batalha-Filho, H., 2017.** The effects of Quaternary sea-level fluctuations on the evolutionary history of an endemic ground lizard (*Tropidurus hygomi*). *Zoologischer Anzeiger-A Journal of Comparative Zoology* 270: 1-8.
- Flexas, J., Barbour, M.M., Brendel, O., Cabrera, H.M., Carriquí, M., Diaz-Espejo, A., Gallé, A., 2012.** Mesophyll diffusion conductance to CO₂: an unappreciated central player in photosynthesis. *Plant Science* 193, 70–84.

- Freire, M.S.B., 1990.** Levantamento florístico do Parque Estadual das Dunas de Natal, *Acta Botanica Brasilica* 4: 41–59.
- 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.
- Fundação SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. 2016.** Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica.
- Fundação SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. 2019.** Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica. Acessado em 22/01/2019.
- Galindo-Leal, C., Câmara, I.G., 2003.** The Atlantic forest of South America: Biodiversity Status. Threats and Outlook. Island Press, Washington.
- Garay, I., Noronha, F., Moraes, V.D., 2008.** Raízes finas nos horizontes do topo do solo em relação a atividades extrativistas em fragmentos de Floresta Atlântica de Tabuleiros. Sooretama, ES. *Floresta e ambiente* 15: 34-48.
- Gianoli, E., 2004.** Plasticity of traits and correlations in two populations of *Convolvulus arvensis* (Convolvulaceae) differing in environmental heterogeneity. *International Journal of Plant Sciences* 165: 825–832.
- Gianoli, E., Palacio-López, K., 2009.** Phenotypic integration may constrain phenotypic plasticity in plants. *Oikos* 118: 1924–1928.
- Godoy, O., Valladares, F., Castro-Díez, P., 2011. Multispecies comparison reveals that invasive and native plants differ in their traits but not in their plasticity. *Functional Ecology* 25: 1248-1259.
- 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 Phytology* 195: 912–922.
- Gyllencreutz, R., Mahiques, M.M.D., Alves, D.V.P., Wainer, I.K.C., 2010.** Mid-to late-Holocene paleoceanographic changes on the southeastern Brazilian shelf based on grain size records. *The Holocene* 20: 863-875.
- Hacke, U.G., Sperry, J.S., Pockman, W.T., Davis, S.D., McCulloh, K.A., 2001.** Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia* 126: 457-461.
- Hay, J. D., Henriques, R.P.B., Lima, D.M., 1981.** Quantitative comparisons of dune and foredune vegetation in restinga ecosystems in the State of Rio de Janeiro, Brazil. *Revista Brasileira de Biologia* 41: 55–662.

- Hawes, J.E., Peres, C.A., 2016.** Patterns of plant phenology in Amazonian seasonally flooded and unflooded forests. *Biotropica* 48: 465-475.
- Henriques, R.P.B., Araújo, D.S.D. & Hay, J.D., 1986.** Descrição e classificação dos tipos de vegetação da restinga de Carapebus, Rio de Janeiro. *Revista Brasileira de Botânica* 9: 173–189.
- INEA (Instituto Estadual do Ambiente).** Estação Ecológica Estadual de Guaxindiba. Disponível em: <<http://www.inea.rj.gov.br/unidades/eeguaxindiba.asp>>. Acesso em: 28 de agosto de 2011.
- 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. **Joly, C.A., Leitão Filho, H.F. & Silva, S.M., 1991.** O patrimônio florístico. In Mata Atlântica (I.G. Câmara, coord.). Index/Fundação SOS Mata Atlântica, São Paulo. 97–125p.
- Julkunen-Tiitto, R., Nenadis, N., Neugart, S., Robson, M., Agati, G., Vepsäläinen, J., Jansen, M.A., 2015.** Assessing the response of plant flavonoids to UV radiation: an overview of appropriate techniques. *Phytochem. Rev.* 14: 273–297.
- Kembel, S.W. & Cahill, J.F., 2005.** Plant phenotypic plasticity belowground: a phylogenetic perspective on root foraging trade-offs. *American Naturalist* 166: 216–230. **Kluge, M. & Ting, I.P., 1978.** Crassulacean acid metabolism: Analysis of an ecological adaptation. Berlin, Springer–Verlag.
- Lacerda, L.D., Araujo, D.S.D. & Maciel N.C., 1993.** Dry coastal ecosystems of the tropical Brazilian coast. In Van der Maarel, E. (ed.). Dry coastal ecosystems: Africa, America, Asia, Oceania. Amsterdam 477–493p.
- Lamego, A.R.O., 1946.** O Homem e a Restinga. 2a ed. Editora Lidador, Rio de Janeiro.
- Maciel, C.P. & Oliveira, V.P.S., 2007.** Ciência e Legislação em prol da Proteção da Restinga do Complexo Lagunar Grussaí-Iquipari. *Boletim do Observatório Ambiental Alberto Ribeiro Lamego* 1: 177-188.
- Lamont, B. & Lamont, H., 2000.** Utilizable water in leaves of 8 arid species as derived from pressure-volume curves and chlorophyll fluorescence. *Physiologia Plantarum* 110: 64–71.
- Leite, P.F., 1994.** As diferentes unidades fitoecológicas da região sul do Brasil; proposta de classificação. Curitiba: UFPR, 1994. 160 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná.

- Magnago, L.F.S., Martins, S.V., Pereira, O.J., 2011.** Heterogeneidade florística das fitocenoses de restingas nos estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo, Brasil. *Revista Árvore* 35:2.
- Martins, S.E., Rossi, L., Sampaio, P.S.P., Magenta, M.A.G., 2007.** Caracterização florística de comunidades vegetais de restinga em Bertioga, SP, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 22: 249–274.
- Marques, J.B., Callado, C.H., Rabelo, G.R., Silva Neto, S.J.D., Cunha, M.D., 2015.** Comparative wood anatomy of species of *Psychotria* L.(Rubiaceae) in Atlantic Rainforest remnants of Rio de Janeiro State, Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 29: 433-444.
- Mau, A.C., Reed, S.C., Wood, T.E., Cavaleri, M.A., 2018.** Temperate and tropical forest canopies are already functioning beyond their thermal thresholds for photosynthesis. *Forests* 9, 47.
- Maxwell, K. & Johnson, G.N., 2000.** Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51: 659–668.
- Menezes, L.F.T. & Araujo, D.S.D., 1999.** Estrutura de duas formações vegetais do cordão exterior da Restinga de Marambaia, RJ. *Acta Botanica Brasilica* 13: 223–235.
- Morellato, L.P.C., Haddad, C.F.B., 2000.** Introduction: The Brazilian Atlantic Forest. *Biotropica* 32: 786–792.
- Murray-Smith, C., Brummitt, N.A., Oliveira Filho, A.T., Bachman, S., Moat, J., Lughadha, E.M., Lucas, E.J., 2009.** Plant diversity hotspots in the Atlantic coastal forests of Brazil. *Conservation Biology* 23: 151–163.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B., Kent, J., 2000.** Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403: 853–858.
- Oliveira-Filho, A.T. 2009.** Classificação das fitofisionomias da América do Sul cisandina tropical e subtropical: proposta de um novo sistema: prático e flexível: ou uma injeção a mais de caos? *Rodriguésia* 60: 237-258.
- Pederneiras, L.C., Costa, A.F., Carauta, J.P.P., Neto, S.R. 2014.** Avaliação do risco de extinção das Urticineae das restingas do estado do Rio de Janeiro. *Rodriguésia* 65: 261–273.
- Pérez-López, U., Sgherri, C., Miranda-Apodaca, J., Micaelli, F., Lacuesta, M., Mena-Petite, A., Muñoz-Rueda, A., 2018.** Concentration of phenolic compounds is increased in lettuce grown under high light intensity and elevated CO₂. *Plant Physiol. Biochem.* 123: 233–241.
- Pigliucci, M., 2003.** Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. *Ecology Letters* 6: 265–272.

- Pigliucci, M., Murren, C. J., Schlichting, C.D., 2006.** Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology* 209:2362-2367.
- Pirzad, A., Shakiba, M.R., Zehtab-Salmasi, S., Mohammadi, S.A., Darvishzadeh, R., Samadi, A., 2011.** Effect of water stress on leaf relative water content, chlorophyll, proline and soluble carbohydrates in *Matricaria chamomilla* L. *J. Med. Plants Res.* 5: 2483– 2488.
- Poorter, L., McDonald, I., Alarcón, A., Fichtler, E., Licona, J. C., Peña-Claros, M., Sass-Klaassen, U., 2010. The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New phytologist* 185: 481-492.
- Poot, P., Lambers, H., 2008.** Shallow-soil endemics: adaptive advantages and constraints of a specialized root-system morphology. *New Phytologist* 178: 371–381.
- Quinet, A., Callado, H.C., Barros, C.F., Lima, H.C., Braga, J.M., Lima, M.P.M., Guedes-Bruni, R.R., Drumond, R.M.A.P., Silva Neto, S.J., Pessoa, S.V.A., 2000.** Mata Atlântica, 500 anos. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, (CR-ROM).
- Rabelo, R.G., Vitória, A.P., Da Silva, M.V.A., Cruz, R.A., Pinho, E.I.B., Ribeiro, D.R., Freitas, A.V., Da Cunha, M., 2013.** Structural and ecophysiological adaptations to forest gaps. *Trees* 27: 259–272.
- Raíces, D.S.L., de Godoy Bergallo, H., 2010.** Diet and seed dispersion of the crab-eaten fox, *Cercocyon thous* (Linnaeus, 1766) in Restinga de Jurubatiba National Park, Rio de Janeiro State, Brazil. *Neotropical Biology and Conservation* 5: 24-30.
- Radambrasil., 1983.** Rio de Janeiro/Vitória; Geologia, Geomorfologia, Pedologia, Vegetação e Uso Potencial da Terra - SF. 23/24. Projeto RADAMBRASIL, Rio de Janeiro.
- Rejeb, K.B., Abdelly, C., Savouré, A., 2014.** How reactive oxygen species and proline face stress together. *Plant. Physiol. Biochem.* 80: 278–284.
- Reys, M.M.C., 1997.** Manuscritos de Manoel Martinz do Couto Reys, 1785. Arquivo Público do Estado do Rio de Janeiro.
- 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.
- Rizzini, C.T., 1979.** Tratado de fitogeografia do Brasil. v.2. Aspectos ecológicos. Hucitec / Edusp, São Paulo.

- Rizzini, C.M., Pereira, C., Occhioni, E.M.L., Agarez, F.V., 1990.** Considerações sobre a ocorrência de Cactaceae na APA de Maricá, Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 4: 171–182.
- Rocha, C.F.D., Van Sluys, M., Bergallo, H.G., Alves, M.A.S. 2005.** Endemic and threatened tetrapods in the restingas of the biodiversity corridors of Serra do Mar and of the central da Mata Atlântica in Eastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology* 65: 159–168.
- Rosado, B.H.P. & de Mattos, E.A., 2007.** Variação temporal de características morfológicas de folhas em dez espécies do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Macaé, RJ, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 21: 741–752.
- Ruschi, A., 1950.** Fitogeografia do Estado do Espírito Santo. v.I. Considerações gerais sobre a distribuição da flora do Estado do Espírito Santo. *Boletim do Museu de Biologia Mello Leitão, Série Botânica* 1:1–353.
- 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.
- Sá, C.F.C. & de Araujo, D.S.D., 2009.** Estrutura e florística de uma floresta de restinga em Ipitangas, Saquarema, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 147-170.
- Salgado-Labouriau, M.L., 2007.** Critérios e técnicas para o Quaternário. Edgard Blucher.
- Sánchez, F.J., Manzanares, M., de Andres, E.F., Tenorio, J.L., Ayerbe, L., 1998.** Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crop. Res.* 59: 225–235.
- Sant’Anna Neto, J.L., Neryjt, Souza, C.R.G., Suguio, K., Oliveira, A.M.S.P., Oliveira, P.E., 2005.** Variabilidade e mudanças climáticas no Brasil e seus impactos regionais. In: Oliveira, P.E., Suguio, K., Gouveia, C. (Eds.), Quaternário do Brasil. Ribeirão Preto, Holos, Brasil, pp. 28–51.
- Santos, M.G., Sylvestre, L.D.S., Araujo, D.D., 2004.** Análise florística das pteridófitas do Parque Nacional da Restinga de Jurubatiba, Rio de Janeiro, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 18: 271-280.
- Scarano, F.R., 2002.** Structure, Function and Floristic Relationships of Plant Communities in Stressful Habitats Marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. *Annals of Botany* 90: 517-524.

- Scarano, F.R., Ceotto, P., 2015.** Brazilian Atlantic forest: impact, vulnerability, and adaptation to climate change. *Biodiversity and Conservation* 24: 2319–2331.
- Scheiner, S.M., 1993.** Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24: 35–68.
- Schreiner, M., Martínez-Abaigar, J., Glaab, J., **Jansen, M., 2014.** UV-B Induced secondary plant metabolites: potential benefits for plant and human health. *Optik & Photonik* 9: 34–37.
- Schumann, T., Paul, S., Melzer, M., Dörmann, P., Jahns, P., 2017.** Plant growth under natural light conditions provides highly flexible short-term acclimation properties toward high light stress. *Front. Plant Sci.* 8: 681.
- Sloboda, B., Marques, R., Bianchin, J., Blum, H., Donha, C., Silveira, F., Capretz, R., 2017.** Litterfall and nutrient dynamics in a mature Atlantic Rain Forest in Brazil. *Floram* 24.
- Silva, G.C.; Nascimento, M.T., 2001.** Fitossociologia de um remanescente de mata sobre tabuleiro no norte do estado do Rio de Janeiro (Mata do Carvão). *Revista Brasileira de Botânica* 24: 51–62.
- Stehmann, J.R. 2009.** Plantas da floresta Atlântica. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2009. 516 p.
- Sultan, S.E., 2000.** Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science* 5: 537–542.
- Suguió, K., Angulo, R.J., Carvalho, A.M., Corrêa, I.C., Tomazelli, L.J., Willwock, J.A., Vital, H., 2005.** Paleoníveis do mar e paleolinhas de costa. *Quat. Brasil* 114–129.
- Suguió, K. & Tessler, M.G., 1984.** Planícies de cordões litorâneos quaternários do Brasil: Origem e nomenclatura. In: L. D. Lacerda; D. S. D. Araujo; R. Cerqueira; B. Turcq (Eds.) Restingas Origem, Estrutura e Processos. CEUFF, Niterói, 15–26p.
- Tang, H., Dubayah, R., 2017.** Light-driven growth in Amazon evergreen forests explained by seasonal variations of vertical canopy structure. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 114: 2640–2644.
- Tsoar, H. & Arens, S. M., 2003.** Mobilização e estabilização de dunas em climas úmidos e secos. *Mercator* 2(3).
- Valentin-Silva, A., Staggemeier, V.G., Batalha, M.A., Guimarães, E., 2018.** What factors can influence the reproductive phenology of Neotropical Piper species (Piperaceae) in a semi-deciduous seasonal forest? *Botany* 96: 675-684.

- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D.A.V.I.D., Zavala, M.A., 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of ecology* 94: 1103-1116.
- Valladares, F., Gianoli, E., Gomez, J.M., 2007.** Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytologist* 176: 749–763.
- van Kleunen, M., Fischer, M., 2005.** Constraints on the evolution of adaptive phenotypic plasticity in plants. *New Phytologist* 166: 49–60.
- Veloso, H.P. & Góes-Filho, L., 1982.** Fitogeografia brasileira – classificação fisionômico-ecológica da vegetação neotropical. Boletim Técnico do Projeto RadamBrasil, Série Vegetação 1:1-80
- Vital, A.R.T., Guerrini, I.A., Franken, W.K., Fonseca, R.C.B., 2004.** Produção de serapilheira e ciclagem de nutrientes de uma floresta estacional semidecidual em zona ripária. *Revista Árvore* 793-800.
- Vitoria, A.P., de Oliveira Vieira, T., de Barbosa Camargo, P., Santiago, L.S., 2016.** Using leaf $\delta^{13}\text{C}$ and photosynthetic parameters to understand acclimation to irradiance and leaf age effects during tropical forest regeneration. *For. Ecol. Manag.* 379, 50–60.
- Vitória, A.P., Ávila-Lovera, E., de Oliveira Vieira, T., do Couto-Santos, A.P.L., Pereira, T.J., Funch, L.S., Freitas, L., Miranda, L.A.P., Rodrigues, P.J.F.P., Rezende, C.E., Santiago, L.S., 2018.** Isotopic composition of leaf carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) of deciduous and evergreen under storey trees in two tropical Brazilian Atlantic forests. *J. Trop. Ecol.* 34: 145–156.
- Vogelmann, T.C., Bornman, J.F., Yates, D.M., 1996.** Focusing of light by leaf epidermal cells. *Physiology Plant* 98: 43–56.
- Xu, X., Medvigy, D., Powers, J.S., Becknell, J.M., Guan, K., 2016.** Diversity in plant hydraulic traits explains seasonal and inter-annual variations of vegetation dynamics in seasonally dry tropical forests. *New Phytologist* 212: 80-95.
- Witkowski, E.T.F., Lamont, B.B., 1991.** Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* 88: 486–493.