

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS HUMANAS E NATURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL**

**KELVIN DE JESUS LEITE**

**ACÚMULO DE NUTRIENTES E CARBOIDRATOS EM POPULAÇÕES DA  
ESPÉCIE DIOICA *Myrsine coriacea***

**VITÓRIA - ES**

**2019**

KELVIN DE JESUS LEITE

**ACÚMULO DE NUTRIENTES E CARBOIDRATOS EM POPULAÇÕES DA  
ESPÉCIE DIOICA *Myrsine coriacea***

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cezar Cavatte

Coorientador: Prof. Dr. Geraldo Rogério  
Faustini Cuzzuol

VITÓRIA - ES

2019

[PÁGINA DA FICHA CATALOGRÁFICA]

# **ACÚMULO DE NUTRIENTES E CARBOIDRATOS EM POPULAÇÕES DA ESPÉCIE DIOICA *Myrsine coriacea***

**KELVIN DE JESUS LEITE**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais da Universidade Federal do Espírito Santo como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal na área de concentração Fisiologia Vegetal.

Aprovada em 28 de fevereiro de 2019.

## **Comissão Examinadora:**

---

**Dr. Paulo Cezar Cavatte** - UFES  
Orientador e Presidente da Comissão

---

**Dr. Elias Terra Werner** - UFES  
Examinador Interno

---

**Dr. Mário Luís Garbin** - UFES  
Examinador Externo

---

**Dr. Samuel Cordeiro Vitor Martins** - UFV  
Examinador Externo

*À minha noiva, Mayla Bessa Scotta,  
pelo incentivo, amizade e amor*

*Aos meus pais, Cremilda e José,  
pela minha educação e instrução*

*As minhas irmãs Kevilin e Ketlyn*

***Dedico***

## AGRADECIMENTOS

A Deus.

À minha família e, especialmente, a minha noiva, bióloga, Mayla Bessa Scotta, por todo apoio nas análises, amparo emocional e incentivo durante todo o período de curso.

À Universidade Federal do Espírito Santo e, em especial, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal pela oportunidade de vivenciar o que é ser pesquisador.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Espírito Santo (FAPES) e a Vale, por todo apoio financeiro.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Paulo Cezar Cavatte, pela oportunidade, pela confiança mesmo não podendo me dedicar exclusivamente ao curso, por me apoiar nas minhas decisões e pelos ensinamentos que vão além da vida acadêmica. Guardarei com muito carinho.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Geraldo Rogério Faustini Cuzzuol, por me receber em seu laboratório e por me instruir nesse período em que trabalhamos juntos.

Aos amigos do Laboratório de Fisiologia e Bioquímica de Plantas (LaBioPlant), Bernardo, Carlinhos, Carlitos, Débora, Fabiano, Tatiane e Xismenia, pela instrução, ajuda e colaboração nas análises, e pelas várias risadas e momentos de descontração.

Aos amigos de pesquisa do Grupo de Ecofisiologia, Jéssica e Vinícius, pela ajuda em relação a espécie estudada.

Ao Renan Hollunder por todo o apoio estatístico prestado.

Ao Centro de Ensino Darwin Grande Vitória, especialmente, as pedagogas Edlea e Marlene, pelo apoio, ajuda e confiança. Muito obrigado!

## LISTA DE FIGURAS

**Figura 1.** Localização geográfica das oito populações de *Myrsine coriacea* nas regiões sul e serrana do estado do Espírito Santo. Municípios de Muqui (MUQ), Alegre (ALE), Venda Nova do Imigrante (VNI), Vargem Alta (VAR), Mimoso do Sul (MIM), Iuna (Iuna), Domingos Martins (DOM) e Dores do Rio Preto (DRP) (Adaptado de VALENTE, 2017). ..... 30

**Figura 2.** Análise de coordenadas principais (PCoA) construída com base no acúmulo de carboidratos nos tecidos foliares em indivíduos de oito populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude. (a) Variação entre indivíduos femininos (F) e masculinos (M). (b) Variação entre as oito populações [Muqui (MUQ), Alegre, (ALE), Venda Nova do Imigrante (VNI), Vargem Alta (VAR), Mimoso do Sul (MIM), Iuna (IUN), Domingo Martins (DOM) e Dores do Rio Preto (DRP)]. São apresentados os valores de probabilidade de significância (*P*) obtidos pelo teste de PERMANOVA. .... 36

**Figura 3.** Variação no acúmulo de carboidratos ( $\text{gKg}^{-1}$ ) em indivíduos de *Myrsine coriacea* oriundos de oito fragmentos de Floresta Atlântica do estado do Espírito Santo [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Iúna), DOM (Domingos Martins) e DRP (Dores do Rio Preto)]. a) Amido, b) Glicose, c) Frutose e d) Sacarose. São apresentados os valores de probabilidade de significância (*P*) obtidos pelo teste não paramétrico de Dunn. Valores seguidos de mesma letra não diferem pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade. .... 37

**Figura 4.** Análise de componentes principais (PCA) construída com base no acúmulo de carboidratos nos tecidos foliares em indivíduos de oito populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do

Sul), IUN (Iúna), DOM (Domingos Martins), DRP (Dores do Rio Preto)]. GLI (Glicose), FRU (Frutose), SAC (Sacarose), AMD (Amido) e ALT (Altitude). Populações representadas com símbolo de mesma coloração pertencem a um mesmo grupo pela correlação de Mantel. .... 38

**Figura 5.** Análise de coordenadas principais (PCoA) construída com base no acúmulo de nutrientes minerais nos tecidos foliares em indivíduos de oito populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude. (a) Variação indivíduos masculinos (M) e femininos (F). (b) Variação entre as oito populações [Muqui (MUQ), Alegre, (ALE), Venda Nova do Imigrante (VNI), Vargem Alta (VAR), Mimoso do Sul (MIM), Iuna (IUN), Domingo Martins (DOM) e Dores do Rio Preto (DRP)]. São apresentados os valores de probabilidade de significância (*P*) obtidos pelo teste de PERMANOVA. .... 39

**Figura 6.** Variação no acúmulo de macronutrientes (g Kg<sup>-1</sup>) em indivíduos de *Myrsine coriacea* oriundos de oito fragmentos de Floresta Atlântica ao longo de um gradiente de altitude, independente do fator sexo [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Iúna), DOM (Domingos Martins), DRP (Dores do Rio Preto)]. a) Nitrogênio, b) Fósforo, c) Potássio, d) Cálcio, e) Magnésio, f) Enxofre. São apresentados os valores de probabilidade de significância (*P*) obtidos pelo teste não paramétrico de Dunn. Valores seguidos de mesma letra não diferem pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade. .... 41

**Figura 7.** Variação no acúmulo de micronutrientes (mg Kg<sup>-1</sup>) em indivíduos de *Myrsine coriacea* oriundos de oito fragmentos de Floresta Atlântica ao longo de um gradiente de altitude, independente do fator sexo [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Iúna), DOM (Domingos Martins), DRP (Dores do Rio Preto)]. a) Ferro, b) Zinco, c) Cobre, d) Manganês, e) Boro. São apresentados os valores de probabilidade de significância (*P*) obtidos pelo teste não paramétrico de Dunn.

Valores seguidos de mesma letra não diferem pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade. .... 42

**Figura 8.** Análise de componentes principais (PCA) construída com base no acúmulo de nutrientes nos tecidos foliares em indivíduos de oito populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude (ALT) [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Íluna), DOM (Domingos Martins), DRP (Dores do Rio Preto)]. Populações representadas com símbolo de mesma coloração pertencem a um mesmo grupo pela correlação de Mantel. .... 43

**Figura 9.** Análise de coordenadas principais (PCoA) construída com base na disponibilidade de nutrientes minerais no solo para indivíduos masculinos e femininos de oito populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude. (a) Variação entre indivíduos masculinos (M) e femininos (F). (b) Variação entre oito populações independente do fator sexo [Muqui (MUQ), Alegre, (ALE), Venda Nova do Imigrante (VNI), Vargem Alta (VAR), Mimoso do Sul (MIM), Iuna (IUN), Domingo Martins (DOM) e Dores do Rio Preto (DRP)]. São apresentados os valores de probabilidade de significância (P) obtidos pelo teste de PERMANOVA. .... 44

**Figura 10.** Variação na disponibilidade de nutrientes do solo para indivíduos femininos (barra cinza escuro) e masculinos (barra cinza clara) de *Myrsine coriacea* oriundos de oito fragmentos de Floresta Atlântica ao longo de um gradiente de altitude [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Íluna), DOM (Domingos Martins), DRP (Dores do Rio Preto)]. a) Fósforo, b) Potássio, c) Cálcio, d) Magnésio, e) Alumínio. São apresentados os valores de probabilidade de significância (P) obtidos pelo teste não paramétrico de Dunn. Valores seguidos de mesma letra dentro de um mesmo sexo não diferem pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade. .... 46

**Figura 11.** Variação na disponibilidade de nutrientes do solo para indivíduos femininos (barra cinza escuro) e masculinos (barra cinza clara) de *Myrsine coriacea* oriundos de oito fragmentos de Floresta Atlântica ao longo de um gradiente de altitude [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Iúna), DOM (Domingos Martins), DRP (Dores do Rio Preto)]. a) pH, b) Matéria Orgânica, c) Sódio, d) Saturação de bases [V (%)]. São apresentados os valores de probabilidade de significância (*P*) obtidos pelo teste não paramétrico de Dunn. Valores seguidos de mesma letra dentro de um mesmo sexo não diferem pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade. .... 48

**Figura 12.** Análise de componentes principais (PCA) construída com base no acúmulo de nutrientes nos tecidos foliares e disponibilidade de nutrientes do solo em indivíduos de oito populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Iúna), DOM (Domingos Martins), DRP (Dores do Rio Preto)]. ALT (Altitude), \_s (Solo), \_f (Folha). Populações com a mesma coloração compõem um mesmo grupo pela correlação de Mantel. .... 50

**Figura 13.** Coeficiente de correlação de Pearson com base no acúmulo de nutrientes na folha e disponibilidade de nutrientes no solo em indivíduos de *Myrsine coriacea* de oito populações oriundos da Floresta Atlântica ao longo de um gradiente de concentração. Azul (correlações positivas), Vermelho (correlações negativas), X (ausência de correlações significativas), \_s (Solo), \_f (Folha). O tamanho maior e cor mais intensa do círculo, indicam maiores significâncias ( $P \leq 0,1$ ). .... 51

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Caracterização (coordenadas geográficas e altitude) das populações de <i>Myrsine coriacea</i> localizadas em municípios das regiões sul e serrana do Espírito Santo.....	29
---	----

## RESUMO

Em espécies de plantas dioicas, indivíduos femininos e masculinos podem apresentar diferenças em algumas características ecofisiológicas. O dimorfismo sexual em características relacionadas com a absorção e uso de recursos se expressa principalmente durante o período reprodutivo, em função dos investimentos dos indivíduos masculinos serem limitados à floração, enquanto que os femininos, além de produzir as flores, deveriam investir grande quantidade dos recursos disponíveis para a produção dos frutos. Entretanto, variações nas condições ambientais, como ocorre ao longo de um gradiente de altitude, afetam o desempenho ecofisiológico de plantas, podendo modificar a demanda diferencial de recursos entre os sexos e, conseqüentemente, o acúmulo de nutrientes e carboidratos. O objetivo deste trabalho foi examinar o acúmulo diferencial de nutrientes e carboidratos em indivíduos de oito populações da espécie dioica *Myrsine coriacea*, localizadas ao longo de um gradiente de altitude na Floresta Atlântica. No final do período de frutificação, amostras de folhas foram coletadas em doze indivíduos (seis femininos e seis masculinos) de cada uma das oito populações analisadas. Análises foram realizadas para determinar a concentração de nutrientes e carboidratos não estruturais no tecido foliar. Amostras de solo foram coletadas na projeção do dossel de cada indivíduo para estudar a relação entre as condições químicas do solo com o acúmulo de nutrientes nas folhas. O acúmulo de carboidratos e nutrientes foi similar entre os sexos, havendo diferenças significativas somente entre as populações. A população localizada na maior altitude (1774 m de altitude) apresentou maior acúmulo de carboidratos solúveis (glicose e frutose) e menor acúmulo de amido, potássio e boro em relação às demais populações. Foi verificada uma relação negativa entre a altitude e o acúmulo foliar de nitrogênio, potássio e boro; para o acúmulo de ferro e cálcio a relação foi positiva. A disponibilidade de nutrientes no solo foi significativamente diferente entre os sexos, porém essa resposta é dependente das condições de cada população. As concentrações de potássio, cálcio e magnésio nas folhas foram associadas com a disponibilidade desses macronutrientes no solo. Entretanto, a disponibilidade de fósforo no solo não foi associada com a concentração desse macronutriente nos tecidos foliares. Destaca-se que as diferenças nas condições químicas do solo verificadas entre

os sexos, não foram acompanhadas por variações significativas no acúmulo de nutrientes nas folhas. Assim, nossos achados apontam que plantas masculinas e femininas de *M. coriacea* devem apresentar variações nos mecanismos de produção/absorção, assimilação e/ou alocação de carboidratos e nutrientes, como forma de suprir os custos diferenciais de reprodução, mantendo a mesma concentração de carboidratos e nutrientes nos tecidos foliares.

Palavras chaves: Dimorfismo sexual • dioicia • plasticidade fenotípica • altitude

## ABSTRACT

In dioecious species, female and male individuals may present differences in some ecophysiological characteristics. The sexual dimorphism in characteristics related to the absorption and use of resources is expressed mainly during the reproductive period, because the investments of the male individuals are limited to the flowering, whereas the feminine, in addition to producing the flowers, had to invest a great quantity of the resources available for fruit production. However, variations in environmental conditions, as occurs along an altitude gradient, affect the ecophysiological performance of plants, and may modify the differential demand of resources between the sexes and, consequently, the accumulation of nutrients and carbohydrates. The objective of this work was to examine the differential accumulation of nutrients and carbohydrates in individuals of eight populations of the *Myrsine coriacea* dioecious species, located along an altitude gradient in the Atlantic Forest. At the end of the fruiting period, leaf samples were collected from twelve individuals (six female and six male) from each of the eight populations analyzed. Analyzes were performed to determine the concentration of nutrients and non-structural carbohydrates in leaf tissue. Soil samples were collected in the canopy projection of each individual to study the relationship between soil chemical conditions and nutrient accumulation in leaves. The accumulation of carbohydrates and nutrients was similar between the sexes, with significant differences only between the populations. The population located at the highest altitude (1774 m altitude) had a higher accumulation of soluble carbohydrates (glucose and fructose) and less accumulation of starch, potassium and boron in relation to other populations. A negative relationship was observed between altitude and nitrogen, potassium and boron leaf accumulation; for the accumulation of iron and calcium the relation was positive. The availability of nutrients in the soil was significantly different between the sexes, but this response is dependent on the conditions of each population. The concentrations of potassium, calcium and magnesium in the leaves were associated with the availability of these macronutrients in the soil. However, the availability of phosphorus in the soil was not associated with the concentration of this macronutrient in the foliar tissues. It should be noted that the differences in soil chemical conditions verified between the sexes were not accompanied by

significant variations in the accumulation of nutrients in the leaves. Thus, our findings indicate that male and female plants of *M. coriacea* must present variations in the mechanisms of production / absorption, assimilation and / or allocation of carbohydrates and nutrients, as a way of supplying differential reproduction costs, maintaining the same carbohydrate concentration and nutrients in leaf tissues.

Keywords: Sexual dimorphism • dioecious • phenotypic plasticity • altitude

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. OBJETIVO GERAL.....	22
3. OBJETIVO ESPECÍFICO.....	22
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	23
4.1 <i>Floresta Atlântica</i> .....	23
4.2 <i>Aspectos ecológicos e ecofisiológicos</i> .....	24
4.3 <i>Efeitos da altitude e temperatura</i> .....	25
4.4 <i>Dioicia e estratégias ecofisiológicas</i> .....	26
4.5 <i>Myrsine coriacea</i> .....	28
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	30
5.1 <i>Caracterização dos locais de estudo</i> .....	30
5.2 <i>Escolha dos indivíduos</i> .....	31
5.3 <i>Período de avaliação</i> .....	32
5.4 <i>Coleta e processamento das folhas</i> .....	32
5.5 <i>Extração de carboidratos foliares</i> .....	32
5.6 <i>Determinação de carboidratos foliares</i> .....	33
5.7 <i>Coleta do solo</i> .....	34
5.8 <i>Determinação de nutrientes do solo</i> .....	34
5.9 <i>Análises estatísticas</i> .....	35
6. RESULTADOS.....	36
6.1 <i>Acúmulo de carboidratos nos tecidos foliares</i> .....	36
6.2 <i>Acúmulo de nutrientes minerais nos tecidos foliares</i> .....	39
6.3 <i>Disponibilidade de nutrientes minerais no solo</i> .....	44
6.4 <i>Relação entre nutrientes minerais do solo e da folha ao longo de um gradiente de altitude</i> .....	50
7. DISCUSSÃO.....	53
8. CONCLUSÃO.....	59
9. REFERÊNCIAS.....	60

## 1. INTRODUÇÃO

Elevada biodiversidade e marcante endemismo são pontos notórios do bioma Mata Atlântica (Mittermeier *et al.*, 2005). A amplitude latitudinal corrobora com sua composição altamente heterogênea, cobrindo um amplo *rol* de zonas climáticas e formações vegetacionais tropicais e subtropicais (Tabarelli *et al.*, 2005). Além disso, as grandes variações altitudinais, mesmo em pequenos intervalos de latitude, também contribuem para a elevada diversidade biológica (De Rezende *et al.*, 2015). Segundo Mantovani *et al.* (2003) as elevações variam entre nível do mar à 2900 m de altitude e são acompanhados por mudanças abruptas nas características do solo e de temperatura, com efeitos diretos sobre a vegetação (Dias *et al.*, 2016).

Infelizmente a Mata Atlântica, bioma de mais de 8000 espécies de plantas vasculares endêmicas (Brançalion, Lima, Rodrigues, 2013), ocupa um status ameaçado sendo um dos 25 *hotspots* mundiais de biodiversidade (Myers *et al.*, 2000). A destruição desse importante bioma advém da exploração desordenada dos recursos naturais e da ocupação territorial (Mittermeier *et al.*, 2005). A acelerada destruição da Mata Atlântica ao longo das últimas décadas, resultou em alterações severas nos ecossistemas que compõem o bioma, especialmente pela perda e fragmentação de habitats (Tabarelli *et al.*, 2005). Segundo Pinto *et al.* (2005), na região entre o sul da Bahia e o Estado do Espírito Santo cerca 98,65% dos remanescentes possuem área menor ou igual a 100 hectares com alta fragmentação.

Vinculado à problemática do desmatamento, as mudanças climáticas são causas de grande preocupação para o futuro do bioma (Steffen *et al.*, 2011). As perdas florestais amplificam a variação da temperatura diurna e aumentam a temperatura média e máxima do ar, afetando principalmente zonas áridas, seguido por zonas temperadas, tropicais e boreais (Alkama e Cescatti, 2016). Entre 2003 e 2012, perdas da cobertura florestal geraram um aquecimento correspondente a cerca de 18% do sinal biogeoquímico global gerado pela emissão de CO<sub>2</sub> (Alkama e Cescatti, 2016), isso mostra, que as intervenções humanas influenciam fortemente nos ciclos biogeoquímicos (Vitousek 1994; Vitousek *et al.*, 1997) e no clima (IPCC, 2014).

Em muitas regiões tropicais, onde grandes áreas de floresta foram historicamente desmatadas pela agricultura, o reflorestamento e a regeneração natural de florestas está criando novas oportunidades de recuperação dos estoques de carbono armazenados na biomassa (Houghton, 2012). O reflorestamento/ regeneração natural de florestas, quando bem administrados, podem contribuir para diminuir a vulnerabilidade dos ecossistemas aos atuais riscos climáticos (Doswald *et al.*, 2014). Entretanto, se fazem necessárias pesquisas que visem identificar organismos que respondam efetivamente, produzindo efeitos positivos e favorecendo a sobrevivência de um elevado número de outras espécies vegetais (Scarano & Garbin, 2013).

A biodiversidade precisará se regenerar em resposta aos impactos causados pelas mudanças do clima, de forma a manter a estabilidade dos sistemas de suporte à vida, e para isso, algumas espécies possuem o potencial de atuar como catalisadoras desse processo (Lüttge *et al.*, 2012; Scarano & Garbin, 2013). O problema fundamental é o limitado conhecimento sobre a genética, fisiologia e ecologia dessas espécies. Diante desse cenário, Alvarez e Körner (2007), afirmam que um grande mosaico de condições ambientais e ecológicas, como aqueles verificados no Bioma Mata Atlântica, tornam esse ambiente propício para estudos ecofisiológicos relacionados com os impactos das mudanças climáticas sobre a vegetação.

Estudos relacionados a ecofisiologia vegetal se encarregam de avaliar as respostas de plantas diante de alterações ambientais, viabilizando dados que corroboram com o entendimento dos efeitos das variações nas condições ambientais no desempenho dos indivíduos (Ackerly *et al.*, 2000; Lüttge *et al.*, 2007). Esclarecer um conjunto de características funcionais (bioquímicas, fisiológicas, morfológicas ou fenológicas), mensuráveis no nível individual, que influenciam fortemente o desempenho ou a adaptabilidade do organismo ao ambiente, é o modo mais usual para caracterizar a estratégia ecofisiológica de uma planta quando submetida a uma determinada condição ambiental (Violle *et al.*, 2007; McGill *et al.*, 2006).

Conforme Ackerly *et al.* (2000) e Wright *et al.* (2004), determinações de características funcionais em plantas podem ser obtidas, quantitativamente ou qualitativamente, definindo características vinculadas com o crescimento,

sobrevivência, capacidade reprodutiva, desempenho fotossintético e alterações morfológicas. A caracterização da disponibilidade nutricional do solo, do acúmulo de carboidratos solúveis (não estruturais) e nutrientes nos tecidos foliares podem contribuir para o entendimento do desempenho ecofisiológico de plantas (Simancas *et al.*, 2016; Dudley, 2006). Quando submetidos a diferentes condições ambientais, indivíduos da mesma espécie podem adotar estratégias ecofisiológicas distintas (Richardson, 2018; Donovan *et al.*, 2011), esta plasticidade fenotípica é considerada o principal meio pelo qual as plantas lidam com a heterogeneidade ambiental (Valladares, Gianoli, Gómez, 2007). Para Bolnick *et al.* (2003), respostas divergentes às condições ambientais, é uma habilidade que pode contribuir para diminuir a competição intraespecífica por um mesmo recurso, propiciando a coexistência entre indivíduos.

Estratégias ecofisiológicas distintas podem ser observadas em plantas dioicas, ou seja, que apresentem dimorfismo sexual. As espécies dioicas, representam cerca de 6 a 7% das espécies de angiospermas (Barrett & Hough, 2012). Dois tipos de dimorfismos sexuais são estabelecidos: primário e secundário. As divergências relacionadas a estrutura floral estão vinculadas com o dimorfismo sexual primário, no qual, indivíduos masculinos possuem flores estaminadas e, femininos, pistiladas. Aspectos que envolvam variações na morfologia, fisiologia e fenologia estão associados ao dimorfismo sexual secundário (Munné-Bosch, 2015). O dimorfismo sexual em características secundárias é verificado principalmente durante a fase reprodutiva (Simancas *et al.*, 2016; Hultine *et al.*, 2008), no qual, indivíduos femininos geralmente apresentam maior demanda por recursos, em função da maior alocação de carboidratos e nutrientes para formação de frutos e sementes, podendo diminuir a concentração desses recursos nas folhas. Para manter a produção de pólen, indivíduos masculinos demandam maiores quantidades de nutrientes mineiras, principalmente, nitrogênio (Case & Ashman, 2005).

Variações altitudinais podem modificar essa demanda diferencial de recursos entre os sexos (Barry, 2008; McCain & Grytnes, 2010; Dias *et al.*, 2016). Em regiões de maiores altitudes os indivíduos são expostos a baixas temperaturas, menor pressão atmosférica e maiores índices de radiação solar (Smith *et al.*, 2009), o que pode influenciar no acúmulo de recursos no tecido

foliar, bem como, na disponibilidade de recursos (água e nutrientes) no solo (Silveira, 2014; Galvêas Laviola *et al.*, 2007; Ryser e Eek, 2000), devido a menores atividades da maquinaria enzimática e, conseqüentemente, afetam diretamente o metabolismo vegetal (Theocharis *et al.*, 2012), juntamente com a diminuição da taxa de mineralização da matéria orgânica, diminuindo a disponibilidade de nutrientes no solo (Razavi *et al.*, 2015).

Dentre as dioicas de Mata Atlântica, destaca-se a *Myrsine coriacea* (Sw.) R. Br. ex Roem. & Schult. (Primulaceae), também conhecida pelo sinônimo *Rapanea ferruginea* (Ruiz & Pav. Mez), e popularmente como ‘Capororoca’ que significa “árvores de ramos frágeis”. Indivíduos dessa espécie apresentam porte arbóreo, dispersão de frutos por animais (zoocórica), ocorrendo geralmente em bordas de matas e estradas de todos os estados da região sul e sudeste do Brasil, comumente em padrão agregado (Freitas & Carrijo, 2008; Freitas & Kinoshita, 2015). Notoriamente a espécie *M. coriacea* tem sido considerada como uma espécie que poderá ser empregada como um modelo para esclarecer respostas das plantas às pressões ambientais decorrentes das mudanças globais. Isto se deve à sua ampla distribuição geográfica (da América Central até o Uruguai) (Otegui, 1998), caráter pioneiro de ocupação do espaço (Tabarelli & Mantovani, 1997; Da Silva e Tabarelli, 2000; Dornelles & Negrelle, 2000; Freitas Kinoshita, 2015), um ótimo potencial de atração de aves tornando-a um poleiro natural o que aumenta significativamente a deposição em seu entorno de sementes de várias outras espécies vegetais dispersas por animais (Begnini & Castellani, 2013).

Em função de suas características, *M. coriacea* tem sido amplamente utilizada em projetos de restauração florestal (Shimamoto *et al.*, 2014; Castro *et al.*, 2012), sendo também um importante componente na regeneração natural de florestas (Ferreira *et al.*, 2009). Entretanto, a utilização de espécies vegetais para recuperação de áreas degradadas demanda, dentre outros aspectos, o conhecimento de sua ecofisiologia. Diante do exposto, buscando uma melhor compreensão das respostas ecofisiológicas da espécie ao longo de um gradiente ambiental (gradiente de altitude), foi testada a hipótese de que indivíduos femininos de populações localizadas em baixas altitudes, em relação àqueles localizados em altitudes mais elevadas, apresentam menor acúmulo de

carboidratos e nutrientes nas folhas, além de, menor disponibilidade de nutrientes no solo do que os indivíduos masculinos.

## 2. OBJETIVO GERAL

Examinar o acúmulo diferencial de nutrientes e carboidratos, considerando o efeito do dimorfismo sexual em oito populações de *M. coriacea* localizadas ao longo de um gradiente de altitude na Floresta Atlântica.

## 3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- I) Mensurar o acúmulo de carboidratos e nutrientes no tecido foliar de indivíduos masculinos e femininos de uma mesma população;
- II) Quantificar o acúmulo carboidratos e nutrientes no tecido foliar, em indivíduos de um mesmo sexo provenientes de diferentes populações ao longo de um gradiente de altitude;
- III) Determinar a disponibilidade de nutrientes do solo entre indivíduos masculinos e femininos de populações localizadas ao longo de um gradiente de altitude;
- IV) Associar as condições químicas do solo com o acúmulo de nutrientes no tecido foliar;
- V) Relacionar o acúmulo de carboidratos/ nutrientes no tecido foliar e a disponibilidade de nutrientes no solo com a variação de altitude.

## 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 Floresta Atlântica

O conjunto de formações florestais como, Floresta Ombrófila Densa, Ombrófila Mista, Estacional Semidecidual, Estacional Decidual e Ombrófila Aberta, juntamente com ecossistemas associados como restingas, manguezais, campos de altitude, brejos interioranos e encaves florestais do Nordeste formam a importante Floresta Atlântica (Brasil, 2018). Extremamente heterogênea em sua composição, o bioma cobre um amplo *rol* de zonas climáticas e formações vegetacionais (Tabarelli *et al.*, 2005) com elevações que vão ao nível do mar até 2900 m de altitude, com mudanças abruptas no tipo e profundidade dos solos e na temperatura média do ar (Mantovani, 2003).

O bioma, considerado a segunda maior floresta pluvial tropical do continente americano que, em sua área original, se estendia ao longo da costa brasileira alcançando o nordeste da Argentina e leste do Paraguai. Atualmente, distribuíse em pequenos fragmentos que somam 16% da sua área original (Fundação SOS Mata Atlântica, 2015; Galindo-Leal & Câmara, 2003). A constante desintegração afeta negativamente a biodiversidade dos vegetais, acarretando a diminuição da disponibilidade de frutos e sementes (Fahrig, 2003; Laurance *et al.*, 2006). A fragmentação da Floresta Atlântica e demais florestas tropicais, é uma das maiores ameaças à biodiversidade e à função dos ecossistemas (Fahrig, 2003; Pardini *et al.*, 2010; Pütz *et al.*, 2011; Magnago *et al.*, 2014). O desmatamento transforma uma floresta contínua em um mosaico de fragmentos florestais que experimentam mudanças nas condições abióticas, juntamente, perdas de habitats e biodiversidade (Laurance *et al.*, 2006; Bennett e Saunders, 2010; Pütz *et al.*, 2011). Por essa situação, o bioma é considerado um dos atuais *hotspots* mundiais de biodiversidade e mesmo sendo em grande parte destruído, ainda abriga aproximadamente 8000 espécies de plantas vasculares endêmicas (Brancalion, Lima, Rodrigues, 2013; Myers *et al.*, 2000), além de ser decretada como Reserva da Biosfera pela Unesco e Patrimônio Nacional (Brasil, 1988).

## **4.2 Aspectos ecológicos e ecofisiológicos**

A reconstituição de uma comunidade vegetal em uma região cuja o ambiente florestal passou por desmatamentos, queimadas, fragmentações ou demais injúrias, ocorre por meio de etapas de sucessão ecológica secundária. Segundo Da Silva (2012), esse processo envolve mudanças graduais na comunidade vegetal, onde espécies que iniciam o processo, denominadas pioneiras, são parcialmente substituídas, em fases posteriores, por espécies clímax, caracterizando o ápice do equilíbrio ecológico. Espécies pioneiras são tolerantes a elevadas irradiâncias e demais fatores desfavoráveis, por essas características, suportam os estágios iniciais de sucessão (De Souza Ferreira *et al.*, 2017). Para Schmitz (1992), a importância das pioneiras no processo de sucessão vincula-se, também, com a germinação rápida de sementes após distúrbios ambientais, gerando, posteriormente, áreas sombreadas para o estabelecimento de outros grupos sucessionais.

As práticas de restaurações florestais se baseiam nos processos de sucessão ecológica, visando resgatar aspectos estruturais, funcionais, estabilidade e resiliência do sistema referido (Nery, 2013). Pesquisas buscam identificar espécies modelo que possam catalisar esse processo gerando efeitos positivos na comunidade vegetal e facilitando a adaptação de espécies lenhosas a partir das melhorias das condições de sombreamento e temperatura, favorecendo assim, a regeneração natural do ecossistema (Nery, 2013; Holl, 2013; Scarano & Garbin, 2013). Entretanto, programas de restaurações florestais, além de se preocuparem com a identificação dessas espécies catalizadoras, devem procurar caracterizar a ecofisiologia dessas espécies potenciais. Desta forma, respostas fisiológicas diante das alterações ambientais serão melhor compreendidas, agregando conhecimento a respeito dos efeitos das variações ambientais no desempenho dos indivíduos (Ackerly *et al.*, 2000; Lüttge *et al.*, 2007). Características relacionadas com o desempenho dos indivíduos, podem ser identificadas analisando o crescimento (Dudley, 2006), sobrevivência e reprodução (Hultine, 2016), além da determinação dos teores de nutrientes nos tecidos foliares, frutos e até mesmo em flores, juntamente com acúmulo de carboidratos não estruturais (Gebler *et al.*, 2005; Simancas *et al.*, 2016; Dudley, 2006).

Para além da problemática do desmatamento, o cenário desfavorável é agravado pelas rápidas mudanças climáticas que representam uma ameaça significativa para as espécies vegetais e comunidade bióticas que elas apoiam. De acordo com projeções, extinções em massa são possíveis, se não prováveis, durante o próximo século (Hultine, 2016).

### **4.3 Efeitos da altitude sobre a vegetação**

O fator altitude exerce forte influência sobre a temperatura e afeta de maneira assertiva diversos processos fisiológicos como a fotossíntese, floração, crescimento, respiração, concentração de pigmentos cloroplastídicos, transporte de elétrons e balanço hídrico das plantas (Marian, Krebs, Arora, 2004; Renaut, Hoffmann, Hausman, 2005), sendo um dos fatores ambientais que mais limita a produtividade e interfere na distribuição geográfica das plantas em todo o mundo (Theocharis *et al.*, 2012; Fisher, 2013).

Estudos em vegetais expostos a baixas temperaturas, como nas localidades de elevadas altitudes, mostram que o desempenho ecofisiológico dos indivíduos é negativamente afetado (Fisher, 2013; Richardson *et al.*, 2018). Menores atividades enzimáticas seriam uma consequência direta das baixas temperaturas sobre o metabolismo vegetal (Theocharis *et al.*, 2012) e, a baixa atividade de mineralização da matéria orgânica seria uma influência indireta causada pelas baixas temperaturas, deste modo, diminuindo a disponibilidade de nutrientes no solo (Razavi *et al.*, 2015). O clima e os solos estão entre os fatores que afetam as características nutricionais foliares (Ordoñez *et al.*, 2009). Para lidar com o estresse pelo frio, vinculado à altitude, as espécies vegetais desenvolveram várias adaptações fisiológicas e moleculares para maximizar a tolerância ao frio, ajustando seu metabolismo (Theocharis *et al.*, 2012).

O metabolismo de carboidratos possui maior sensibilidade à baixas temperaturas comparado com outras etapas da produção de fotoassimilados (Fernandez *et al.*, 2012). Osmorregulação, crioproteção e sinalização são papéis que podem ser atribuídos aos carboidratos solúveis quando plantas são expostas ao frio (Welling e Palva, 2006). Atuando como típicos osmólitos compatíveis, alguns carboidratos contribuem para a preservação da hidratação

celular, além de proteger as membranas das células vegetais durante a desidratação induzida pelo frio, substituindo as moléculas de água no estabelecimento de ligações de hidrogênio com moléculas lipídicas (Uemura e Steponkus, 1999 ; Ruelland *et al.*, 2009) .

Menores temperaturas, ainda, afetam negativamente o crescimento radicular (Sebastian *et al.*, 2016; Alvarez e Körner, 2007). Raízes de espécies arbóreas perenes e decíduas revelaram limites semelhantes de baixa temperatura para o crescimento, com a maior parte das raízes produzidas em temperaturas acima de 5°C (Schenker *et al.*, 2014). Plantas expostas à tais condições estabelecem relações simbióticas com fungos micorrízicos para potencializar a absorção de nutrientes (Pedranzani *et al.*, 2016; Zhu *et al.*, 2010). Aumentos na atividade fotossintética e eficiência no uso da água têm sido relatados em plantas após o estabelecimento da simbiose (Birhane *et al.*, 2012 ; Liu *et al.*, 2015). Ainda, a simbiose ao estimular o transporte de carboidratos entre a fonte e os tecidos de dreno, limita a ocorrência de inibições metabólicas da fotossíntese (Kaschuk *et al.*, 2009). Os fungos micorrízicos modulam as relações entre a fonte e os drenos, podendo estimular as taxas de fotossíntese suficientemente para compensar as exigências de fotoassimilados para suprir a demanda do fungo (Kaschuk *et al.*, 2009; Dodd e Pérez-Alfocea, 2012).

#### **4.4 Dioicía e estratégias ecofisiológicas**

Se a espécie apresenta flores masculinas e femininas ocorrendo em indivíduos separados, esse vegetal é classificado como dioico (Taiz, 2017). O dioicismo ocorre em 157 famílias de angiospermas em todo o mundo, representando cerca de metade de todas as famílias da divisão. Como habitam regiões relativamente próximas para fins reprodutivos, indivíduos de sexo diferente são capazes de apresentar estratégias ecofisiológicas distintas para diminuir a competição intraespecífica por recursos ambientais e permitir a coexistência (Donovan *et al.*, 2011; Bolnick *et al.*, 2013). O dimorfismo sexual entre os vegetais pode se apresentar de forma primária onde as divergências

são as estruturas florais, com indivíduos masculinos manifestando flores estaminadas e indivíduos femininos, pistiladas (Munné-Bosch, 2015).

Quando submetidas a condições ambientais divergentes, como variações altitudinais, indivíduos do mesmo sexo podem expressar diferenças fenotípicas distintas (Richardson, 2018; Donovan *et al.*, 2011), esta plasticidade fenotípica é considerada o principal meio pelo qual as plantas lidam com a heterogeneidade ambiental (Valladares, Gianoli, Gómez, 2007). As plantas femininas, por investirem uma quantidade maior de recursos para a reprodução devido a formação de frutos e sementes, e não apenas na formação de flores como os indivíduos masculinos (Simancas, 2016; Sánchez-Vilas, Bermúdez, Retuerto, 2012), são mais susceptíveis aos efeitos negativos de estresses, quando comparadas com os indivíduos masculinos. Para além, espécies de plantas dioicas podem apresentar dimorfismo sexual na capacidade de responder a seca, onde, plantas masculinas tendem a ser mais tolerantes devido ao melhor uso de água e maior capacidade fotossintética. Além disso, plantas femininas, quando comparadas as masculinas, geralmente, apresentam menor tolerância ao estresse oxidativo e maior susceptibilidade à fotoinibição (Simancas, 2016). Entretanto, as variações nas condições ambientais, podem alterar a demanda diferencial de recursos entre os sexos (Barry, 2008; McCain & Grytnes, 2010; Dias *et al.*, 2016), afetando o dimorfismo sexual na capacidade de resposta a estresses.

Em regiões de maiores altitudes os indivíduos são expostos a baixas temperaturas, menor pressão atmosférica e maiores intensidades de radiação solar (Smith *et al.*, 2009), o que pode influenciar no acúmulo de recursos no tecido foliar, bem como, a disponibilidade de recursos no solo (Silveira 2014; Galvêas Laviola *et al.*, 2007; Ryser e Eek, 2000). Diferentes processos fisiológicos no vegetal competem pelos mesmos recursos, podendo o crescimento, manutenção e reprodução se tornarem atividades concorrentes (Obeso, 2002). Segundo Barrett e Hough (2012), o alto gasto de recursos para a reprodução em indivíduos femininos diminuem sua resistência aos fatores bióticos e abióticos, e indivíduos masculinos alocariam mais recursos em crescimento. Cornelissen e Stiling (2005) observaram que apesar do lento crescimento de indivíduos femininos, a produção de substâncias de defesa é

maior devido à quantidade exígua de nutrientes, principalmente nitrogênio. Com nitrogênio limitado, a diversidade de aminoácidos essenciais para síntese proteica, que agregará principalmente em crescimento, será prejudicada e certos aminoácidos disponíveis, como a fenilalanina serão utilizadas para síntese fenólica, o que aumentará a síntese de compostos fenólicos que atuam na defesa contra herbívoros generalistas (Jones e Hartley, 1999; Heiska *et al.*, 2007). Entretanto, alguns estudos mostram que, em algumas espécies, indivíduos femininos podem crescer mais comparado a indivíduos masculinos durante o período reprodutivo devido a sua alta eficiência fotossintética (Moreira, 2015). Tais particularidades ecofisiológicas devem ser alvo de estudos para explanar como os vegetais são capazes de se adaptarem as variações do ambiente.

#### **4.5 *Myrsine coriacea***

A distribuição pantropical, ou seja, ampla distribuição em qualquer região dos trópicos, é um ponto que impressiona na família Myrsinaceae, que possui cerca de 1.500 espécies, subordinadas a 49 gêneros (Ståhl & Anderberg, 2004). Os gêneros ocorrentes no Brasil são os *Ardisia*, *Cybianthus* (incl. *Conomorpha*), *Myrsine* (incl. *Rapanea*) e *Stylogyne*, totalizando cerca de 100 espécies (Jung-Mendaçolli *et al.*, 2005). Espécies da família Myrsinaceae são vegetais geralmente arbustivos com folhas simples, alternadas, sem estípulas, frequentemente adensadas no ápice dos ramos, juntamente apresentando, estruturas secretoras internas que podem ser encontradas nas flores e frutos (Barroso *et al.*, 2002).

A espécie *M. coriacea*, conhecida popularmente como ‘Capororoca’, destaca-se por participar de processos naturais de sucessão (Tabarelli & Mantovani, 1997; Dornelles & Negrelle, 2000; Freitas e Kinoshita, 2015) e por ter um ótimo potencial de atração de aves, tornando-a um poleiro natural o que aumenta significativamente a deposição em seu entorno de sementes de várias outras espécies vegetais dispersas por animais (Pineschi, 1990; Da Silva & Tabarelli, 2000; Begnini & Castellani, 2013). No Sul do Brasil, é uma das espécies pioneiras com grande produção de frutos que são pequenos, escuros,

globosos e com cavidades secretoras (Valente, 2017, Barroso *et al.*, 2002), podendo chegar a 100 unidades por ramo (Pineschi, 1990). Esses vegetais florescem durante os meses de maio e junho, e os frutos amadurecem de outubro a dezembro (Loizenzi, 1992). No Brasil, ocorre em diversas formações florestais, principalmente em áreas abertas, secas e à beira de estradas nos estados das regiões Sul, Sudeste e Centro-Oeste e, no Nordeste, apenas nos estados de Pernambuco e Bahia (Lorenzi, 1992; Freitas e Kinoshita, 2015). Em algumas áreas, *M. coriacea* pode ser dominante, apresentando um elevado número de indivíduos, formando os chamados “*Myrsinietum*” (Siminski *et al.*, 2004).

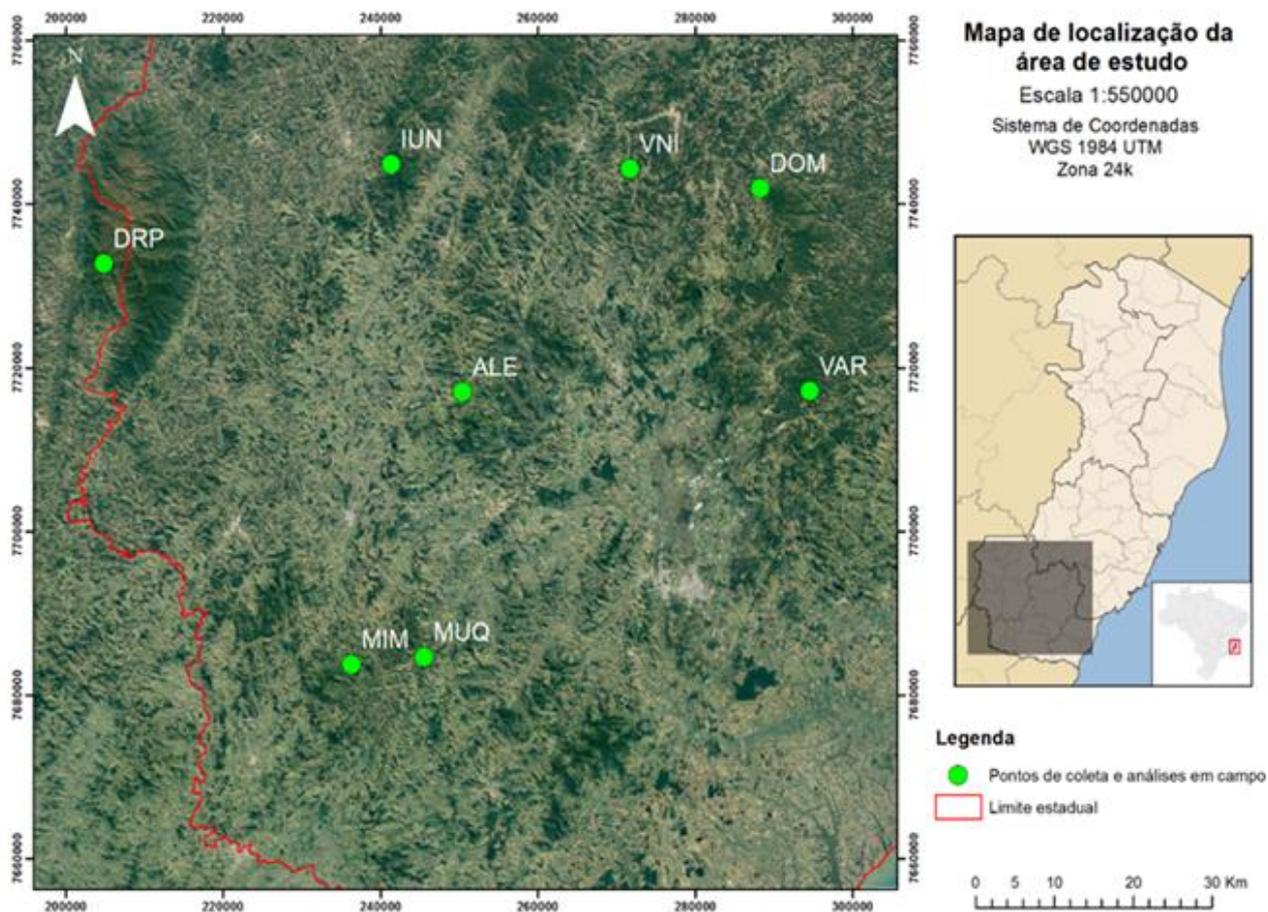
## 5. MATERIAIS E MÉTODOS

### 5.1 Caracterização dos locais de estudo

O estudo foi realizado em populações de *M. coriacea* presentes em oito diferentes fragmentos da Floresta Atlântica, localizadas em municípios das regiões sul e serrana do estado do Espírito Santo. A determinação das coordenadas geográficas e altitude das populações em estudo foram obtidas por GPS (Garmin, MAP 64S), e para registro dos pontos, utilizou-se as regiões centrais de cada população (Tabela 1; Figura 1).

Tabela 1: Caracterização (coordenadas geográficas e altitude) das populações de *Myrsine coriacea* localizadas em municípios das regiões sul e serrana do Espírito Santo.

População	Município	Latitude	Longitude	Altitude (m)	Temperatura (°C)
MUQ	Muqui	20°55'S	41°26'W	639	21,2
ALE	Alegre	20°37'S	41°23'W	752	20,7
VNI	Venda Nova do Imigrante	20°23'S	41°11'W	851	18,7
VAR	Vargem Alta	20°37'S	41°58'W	863	18,5
MIM	Mimoso do Sul	20°55'S	41°32'W	917	17,7
IUN	Iúna	20°22'S	41°28'W	1093	20,0
DOM	Domingos Martins	20°24'S	41°01'W	1302	17,7
DRP	Dores do Rio Preto	20°28'S	41°49'W	1774	8,0



**Figura 1.** Localização geográfica das oito populações de *Myrsine coriacea* localizadas em municípios das regiões sul e serrana do estado do Espírito Santo. Municípios de Muqui (MUQ), Alegre (ALE), Venda Nova do Imigrante (VNI), Vargem Alta (VAR), Mimoso do Sul (MIM), Iúna (IUN), Domingos Martins (DOM) e Dorés do Rio Preto (DRP) (Adaptado de VALENTE, 2017).

## 5.2 Escolha dos indivíduos

Seis árvores masculinas e seis árvores femininas que apresentavam aproximadamente a mesma altura e diâmetro à altura do peito foram escolhidas, identificadas e marcadas em cada população, totalizando, por população, doze indivíduos. A identificação dos indivíduos ocorreu durante a fase de floração, período de abril a julho de 2016. Árvores com flores pistiladas foram identificadas como femininas, e as com flores estaminadas foram identificadas como masculinas. A marcação deu-se com a inserção de placas inoxidáveis possuindo um número de identificação fixado com arame maleável no tronco de cada indivíduo. Sempre que possível, priorizou a marcação de

indivíduos localizados mais próximos uns dos outros, como forma de evitar as variações microclimáticas dentro de uma mesma população.

### **5.3 Período de avaliação**

A coleta de material vegetal e solo para análises, ocorreu durante visitas à campo realizadas no final do período de frutificação. O período de frutificação se estendeu de agosto a novembro de 2016. No geral, as coletas em populações localizadas em menores altitudes ocorreram no início do período de frutificação, já para populações localizadas em maiores altitudes as coletas ocorreram no final do período.

### **5.4 Coleta e processamento das folhas**

Cerca de 10 folhas saudáveis e totalmente expandidas inseridas no 3º nó de ramos de cada indivíduo marcado, foram coletadas ao longo de todo dossel. Inicialmente as folhas foram lavadas com água destilada e acondicionadas em envelopes de papel alumínio que foram dispostos em caixa de isopor com gelo e, posteriormente, armazenados em ultrafreezer (-80°C). Finalmente, as amostras foram desidratadas em liofilizador por 48 horas e, em seguida, maceradas em gral e pistilo de porcelana.

### **5.5 Extração de carboidratos foliares**

#### **5.5.1 Glicose, frutose e sacarose**

Para a realização dos experimentos foi adaptado o protocolo proposto por Pollock (1986), onde, 50 mg de folhas liofilizadas foram solubilizadas com 1,5 mL de etanol 80% e levadas ao banho-maria a 80°C durante 20 minutos. Posteriormente, a amostra foi centrifugada a 10000 rpm por 5 minutos e, em sequência, o sobrenadante foi reservado. As fases anteriores foram repetidas três vezes. Os sobrenadantes, por amostra, foram concentrados em liofilizador. Subsequentemente, os açúcares foram ressuspensos com 1 mL

de água ultrapura e agitados. A solução passou por congelamento e, posteriormente, aplicada no HPLC (Shimadzu com detector de refração e coluna CLC-NH<sub>2</sub>) para determinação da concentração dos carboidratos solúveis.

### **5.5.2 Amido**

Para quantificação de amido foi adotado o protocolo por método enzimático proposto por Amaral *et al.* (2007). Foram utilizadas 10 mg de material liofilizado para extração de carboidratos em etanol 80%, conforme proposto por Pollock (1986) e descrito no item 5.8.1. O precipitado foi seco em estufa em 45°C e, em seguida, adicionou-se à amostra 2 x 0,5 mL de  $\alpha$  – amilase diluída em tampão MOPS (120  $\mu$ mL<sup>-1</sup>), seguido por incubação por 30 minutos a 75°C para cada vez. Posteriormente, adicionou-se 2 x 0,5 mL de amiloglucosidase diluída em tampão acetato de sódio (30 v/ mL), seguido por incubação por 30 minutos a 50°C para cada vez. Para interromper a ação enzimática, adicionou à reação 100  $\mu$ L de ácido perclórico 0,8 M com subsequentemente resfriamento, finalmente a amostra foi centrifugação a 13000 rpm por 5 minutos. Para dosagem de amido, foi utilizado o reagente GODPOD, utilizando glicose como padrão, seguido por leitura em Detector Elisa (Thermo Scientific - Multiskan FC).

### **5.6 Determinação de nutrientes foliares**

A concentração de nutrientes nas amostras foliares foram determinadas, segundo metodologias descrita por Malavolta *et al.* (1997). Foram analisados os teores de nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), enxofre (S), ferro (Fe), zinco (Zn), cobre (Cu), manganês (Mn) e boro (B). A concentração de N total foi determinada após a soma do N presente na forma orgânica e nítrica. Para tal, após digestão sulfúrica, foi quantificada no extrato a concentração de N orgânico usando-se o reagente Nessler. A determinação de nitrato foi realizada conforme método descrito por Cataldo *et*

al. (1975). Para determinação do B, as amostras foram submetidas à digestão por via seca (incineração), quantificando-se posteriormente o seu conteúdo por meio da colorimetria. Os demais nutrientes (P, K, Ca, Mg, S, Fe, Zn, Cu e Mn) foram extraídos por meio da digestão nitroperclórica e posterior determinação no extrato. O P foi determinado por colorimetria, o K por fotometria de chama e o S por turbidimetria. O Ca, Mg, Fe, Zn, Cu e Mn foram analisados por espectrofotometria de absorção atômica.

### **5.7 Coleta do solo**

Amostras de solo foram coletadas com auxílio de trado holandês na profundidade 0–20 cm. Retirou-se de cada indivíduos quatro amostras simples, que foram coletadas na região de projeção da copa. As quatro amostras simples foram homogeneizadas, formando uma amostra composta. Aproximadamente 500 g de cada amostra composta foi acondicionada em sacola de plástico devidamente identificada e, posteriormente, secada ao ar, destorroada e passada em peneira (2 mm).

### **5.8 Determinação da concentração dos nutrientes do solo**

As análises químicas das amostras de solo foram realizadas conforme Embrapa (1997). Para tal, a concentração de potássio (K) foi determinada após a extração com extrator Mehlich e determinação por espectrofotometria de chama; a concentração de cálcio (Ca) e magnésio (Mg) foram determinadas após a extração com KCl 1 mol L<sup>-1</sup> e determinação por espectrometria de absorção atômica; a concentração de alumínio (Al) foi determinada após a extração com KCl 1 mol L<sup>-1</sup> e quantificação por titulometria; o teor de matéria orgânica deu-se após oxidação do carbono por via úmida com dicromato de potássio em meio ácido (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).

## 5.9 Análises estatísticas

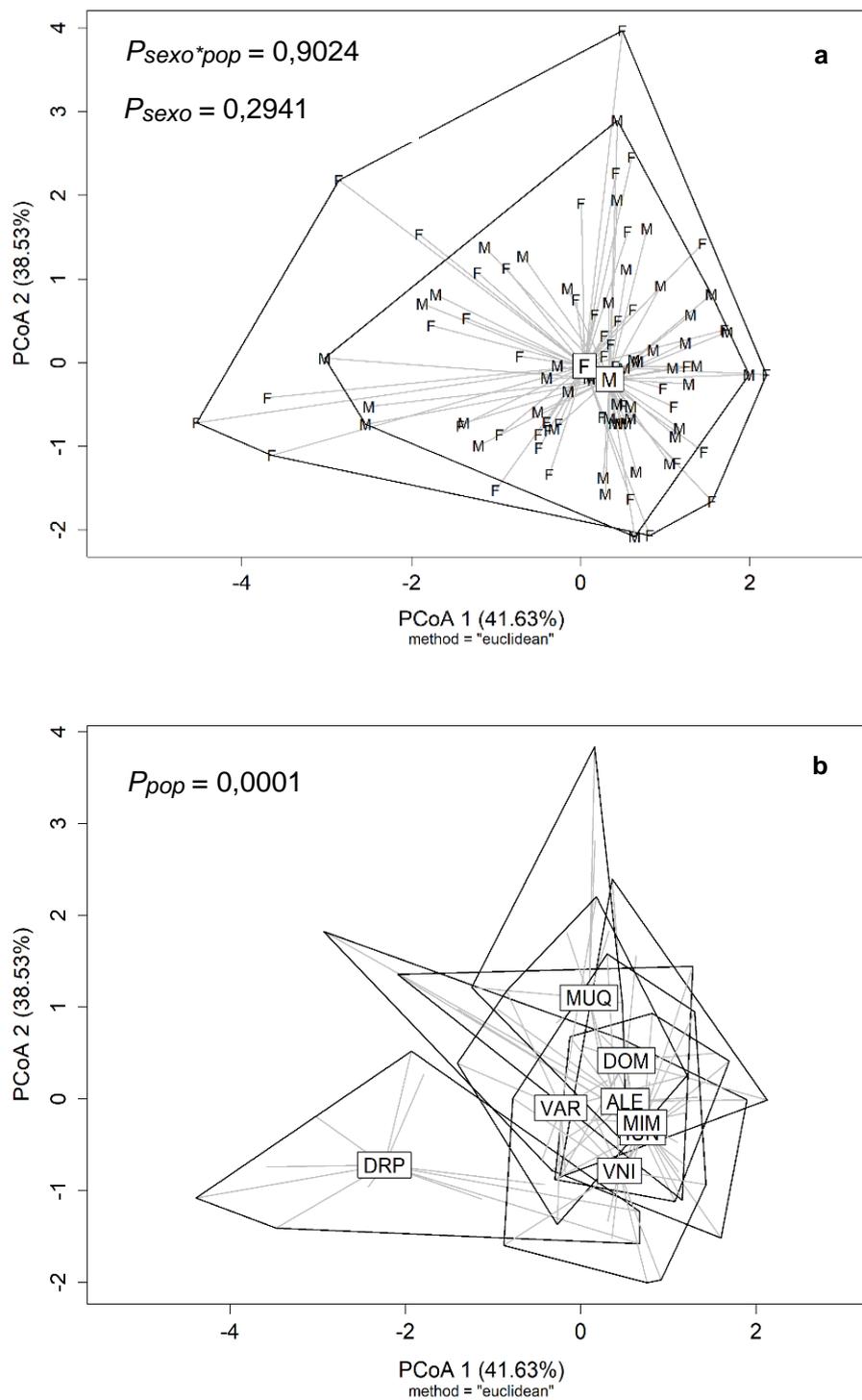
Com o intuito de avaliar se houve interação entre os fatores sexo e população e o efeito dos fatores atuando de forma isolada no acúmulo de carboidratos e nutrientes no tecido foliar, e na concentração de nutrientes no solo de indivíduos femininos e masculinos, foram aplicadas análises de coordenadas principais (Legendre & Legendre 2012), seguidas por análises de variância por testes de permutação não paramétricos (PERMANOVA; Anderson 2001; McArdle & Anderson 2001). Uma seleção de variáveis e uma Análise de Redundância (RDA) (Legendre & Legendre 2012) foram aplicadas para averiguar se existe relação entre os nutrientes da folha com nutrientes do solo. Além disso, o coeficiente de correlação de Pearson (Legendre & Legendre 2012) foi calculado para apurar se há correlações positivas ou negativas entre os nutrientes presentes no solo com os nutrientes presentes na folha. O teste de Dunn (Dunn, 1964) foi aplicado para detectar diferenças entre os sexos e entre as populações. Análises de Componentes Principais (PCA) (Legendre & Legendre 2012) foram aplicados aos dados de carboidratos, nutrientes na folha e nutrientes no solo. Nesta etapa a altitude foi incluída como uma variável para verificar a relação entre a altitude e as variáveis dependentes. Nessa mesma matriz de dados, foi aplicado uma correlação de Mantel (Borcard *et al.*, 2011) buscando determinar a formação de grupos de populações. Para isso, uma matriz de distância foi calculada e então comparada com a matriz original. A análise dos dados foi feita no software R versão 3. 5. 1 (R Core Team, 2018), utilizando os pacotes 'vegan' (Oksanen *et al* 2018), 'Rmisc' (Hope, 2013) e 'dunn.test' (Dinno, 2017).

## 6. RESULTADOS

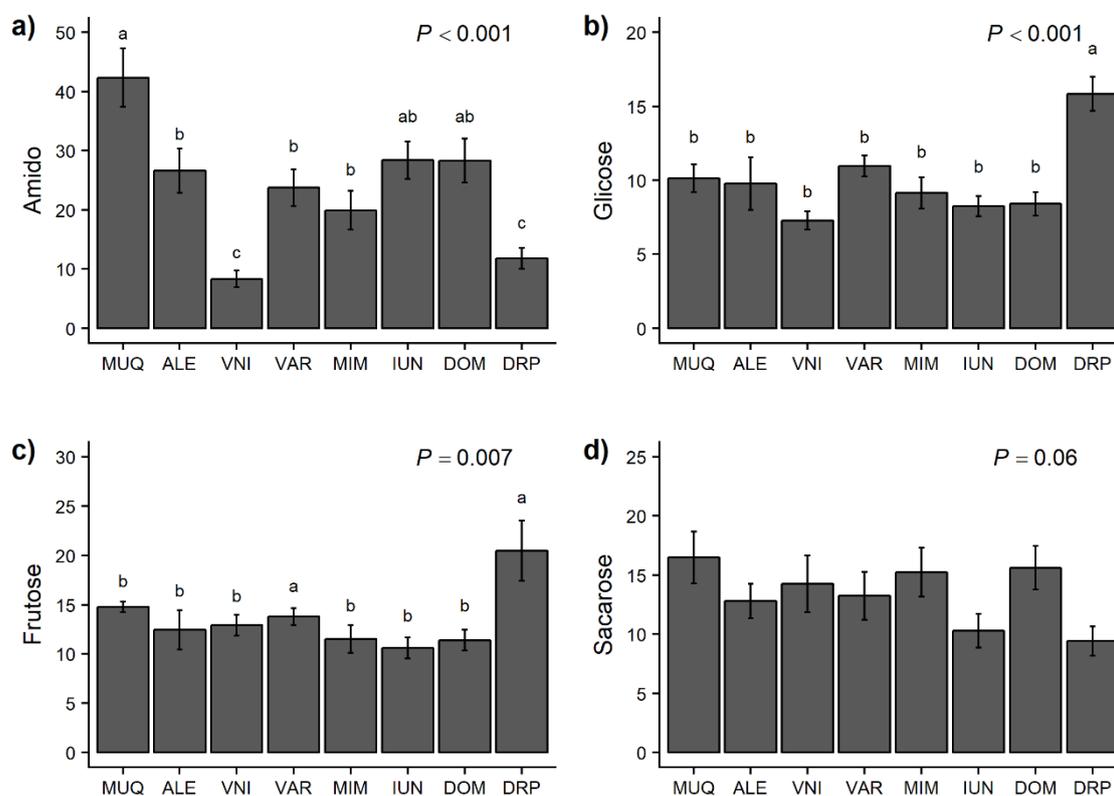
### 6.1 Acúmulo de carboidratos nos tecidos foliares

Não houve interação entre os fatores sexo e população ( $P_{\text{sexo*pop}} = 0,9024$ ) (Figura 2a). Considerando os fatores atuando de forma isolada, somente o fator população apresentou diferenças significativas ( $P_{\text{pop}} = 0,0001$ ). Dentre as oito populações analisadas, a população DRP mostrou ser mais divergente no acúmulo de carboidratos em relação às demais (Figura 2b).

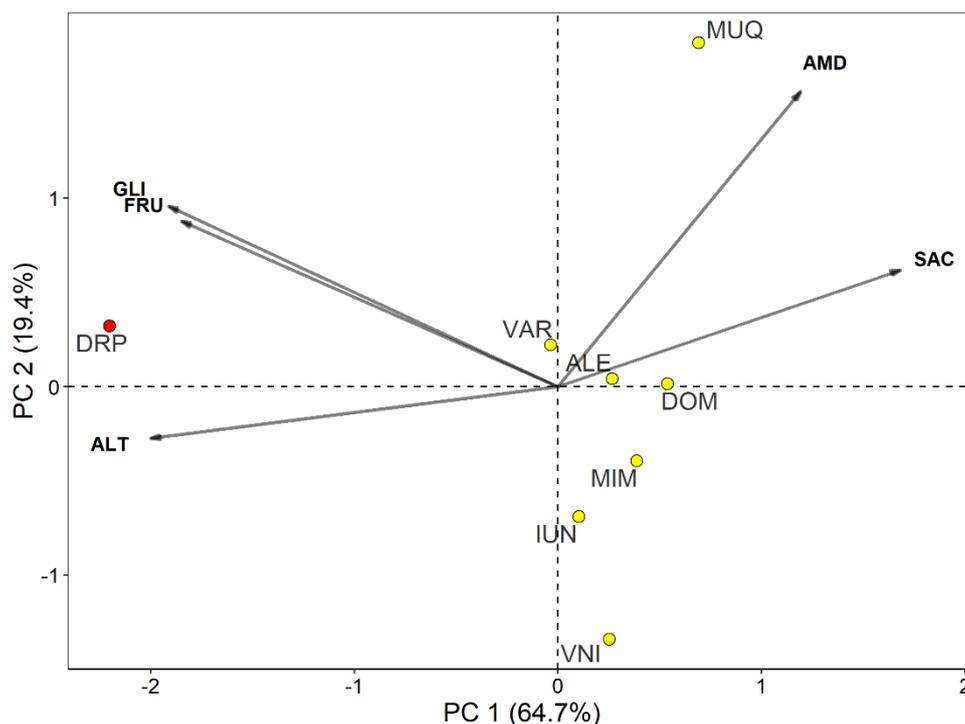
Foram detectadas diferenças significativas entre as populações no acúmulo de amido ( $P_{\text{amido}} < 0,001$ ), glicose ( $P_{\text{glicose}} < 0,001$ ) e frutose ( $P_{\text{frutose}} = 0,007$ ) (Figura 3). Indivíduos das populações VNI e DRP apresentaram folhas com menor acúmulo de amido (61% e 75%, respectivamente), em relação aos indivíduos das populações que apresentaram os maiores acúmulos (MUQ, IUN e DOM) (Figura 3 a). Contudo, indivíduos da população DRP apresentaram folhas com maior conteúdo de glicose (42%) e frutose (37%), em relação às demais populações (Figura 3b e 3c). A análise de componentes principais (PCA) e a correlação de Mantel confirma que os indivíduos da população DRP diverge dos demais por possuir maiores acúmulos dos carboidratos não estruturais (glicose e frutose) e menores de amido (Figura 4).



**Figura 2:** Análise de coordenadas principais (PCoA) construída com base no acúmulo de carboidratos nos tecidos foliares em indivíduos de oito populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude. (a) Variação entre indivíduos femininos (F) e masculinos (M). (b) Variação entre oito populações independente do fator sexo. São apresentados os valores de probabilidade de significância ( $P$ ) obtidos pelo teste de PERMANOVA.



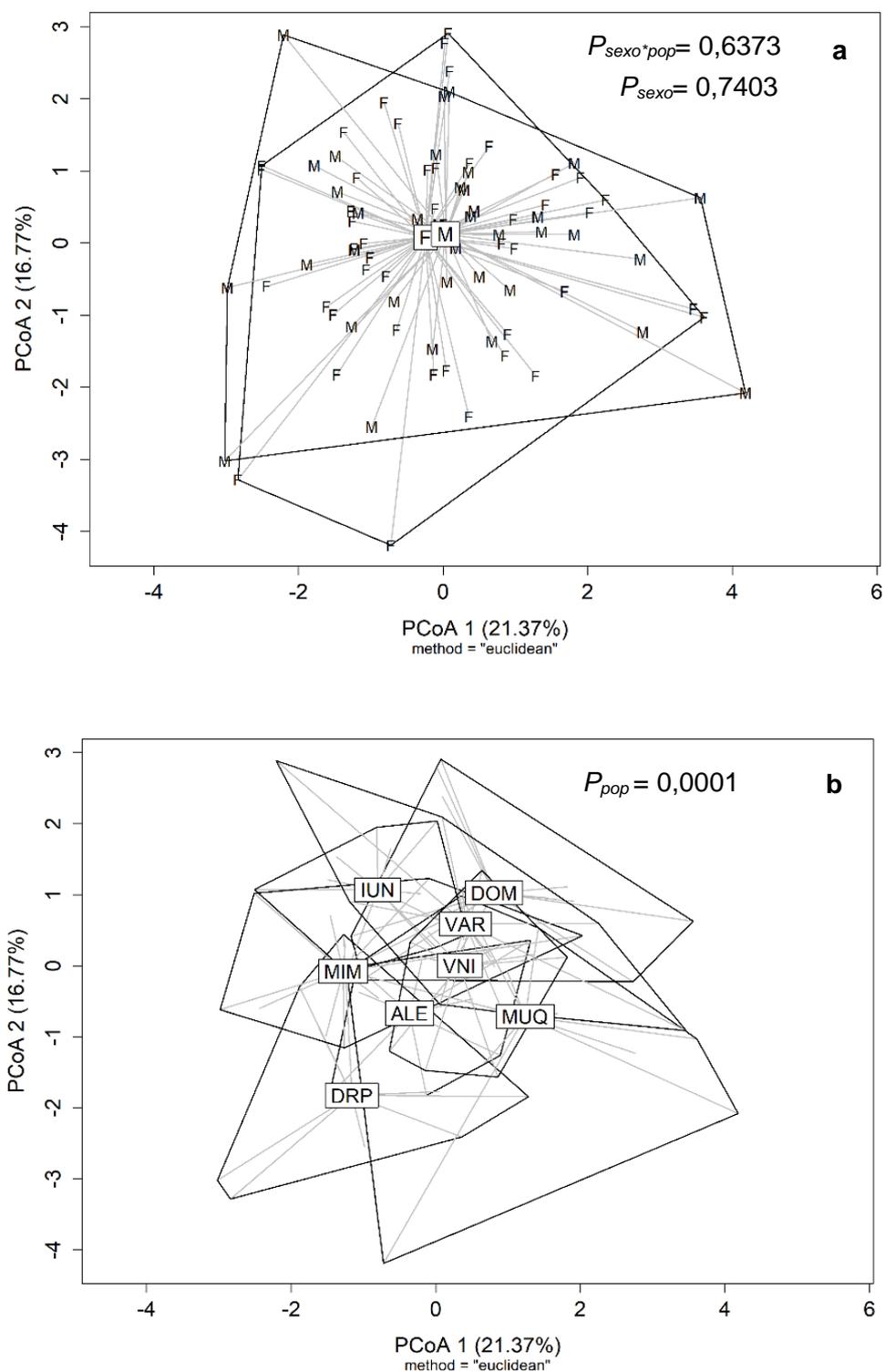
**Figura 3.** Variação no acúmulo de carboidratos (gKg<sup>-1</sup>) em indivíduos de *Myrsine coriacea* oriundos de oito fragmentos de Floresta Atlântica do estado do Espírito Santo [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Íluna), DOM (Domingos Martins) e DRP (Dores do Rio Preto)]. a) Amido, b) Glicose, c) Frutose e d) Sacarose. São apresentados os valores de probabilidade de significância ( $P$ ) obtidos pelo teste não paramétrico de Dunn. Valores seguidos de mesma letra não diferem pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade.



**Figura 4.** Análise de componentes principais (PCA) construída com base no acúmulo de carboidratos nos tecidos foliares em indivíduos de oito populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Iúna), DOM (Domingos Martins), DRP (Dores do Rio Preto)]. GLI (Glicose), FRU (Frutose), SAC (Sacarose), AMD (Amido) e ALT (Altitude). Populações representadas com símbolo de mesma coloração pertencem a um mesmo grupo pela correlação de Mantel.

## 6.2 Acúmulo de nutrientes minerais nos tecidos foliares

Não houve interação entre os fatores sexo e população ( $P_{\text{sexo} \times \text{pop}} = 0,6373$ ) (Figura 5a). Considerando os fatores atuando de forma isolada, somente o fator população apresentou diferenças significativas ( $P_{\text{pop}} = 0,0001$ ) (Figura 5b).

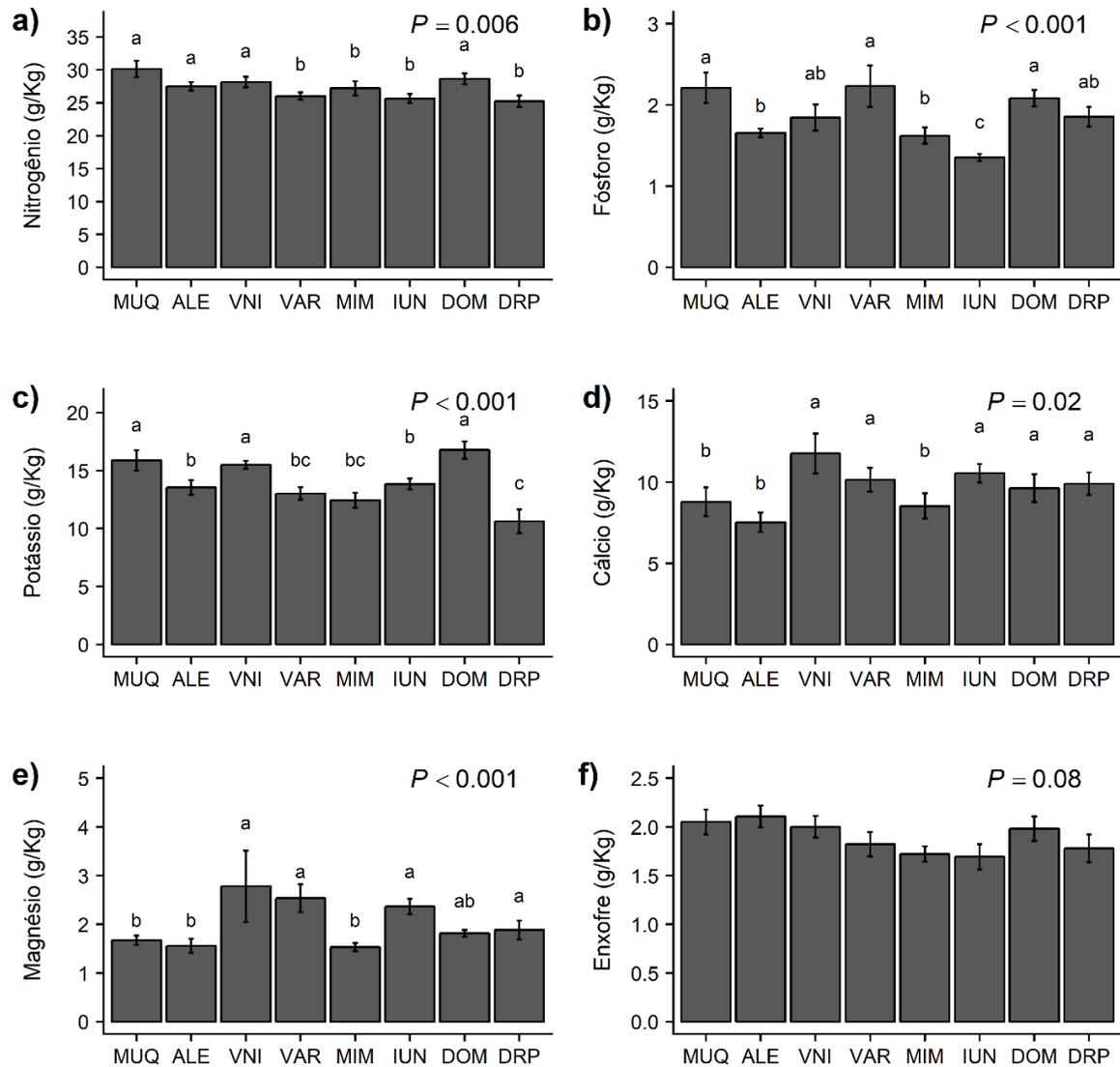


**Figura 5.** Análise de coordenadas principais (PCoA) construída com base no acúmulo de nutrientes minerais nos tecidos foliares em indivíduos de oito populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude. (a) Variação indivíduos masculinos (M) e femininos (F). (b) Variação entre as oito populações [Muqui (MUQ), Alegre (ALE), Venda Nova do Imigrante (VNI), Vargem Alta (VAR), Mimoso do Sul (MIM), Iuna (IUN), Domingo Martins (DOM) e Dorés do Rio Preto (DRP)]. São apresentados os valores de probabilidade de significância ( $P$ ) obtidos pelo teste de PERMANOVA

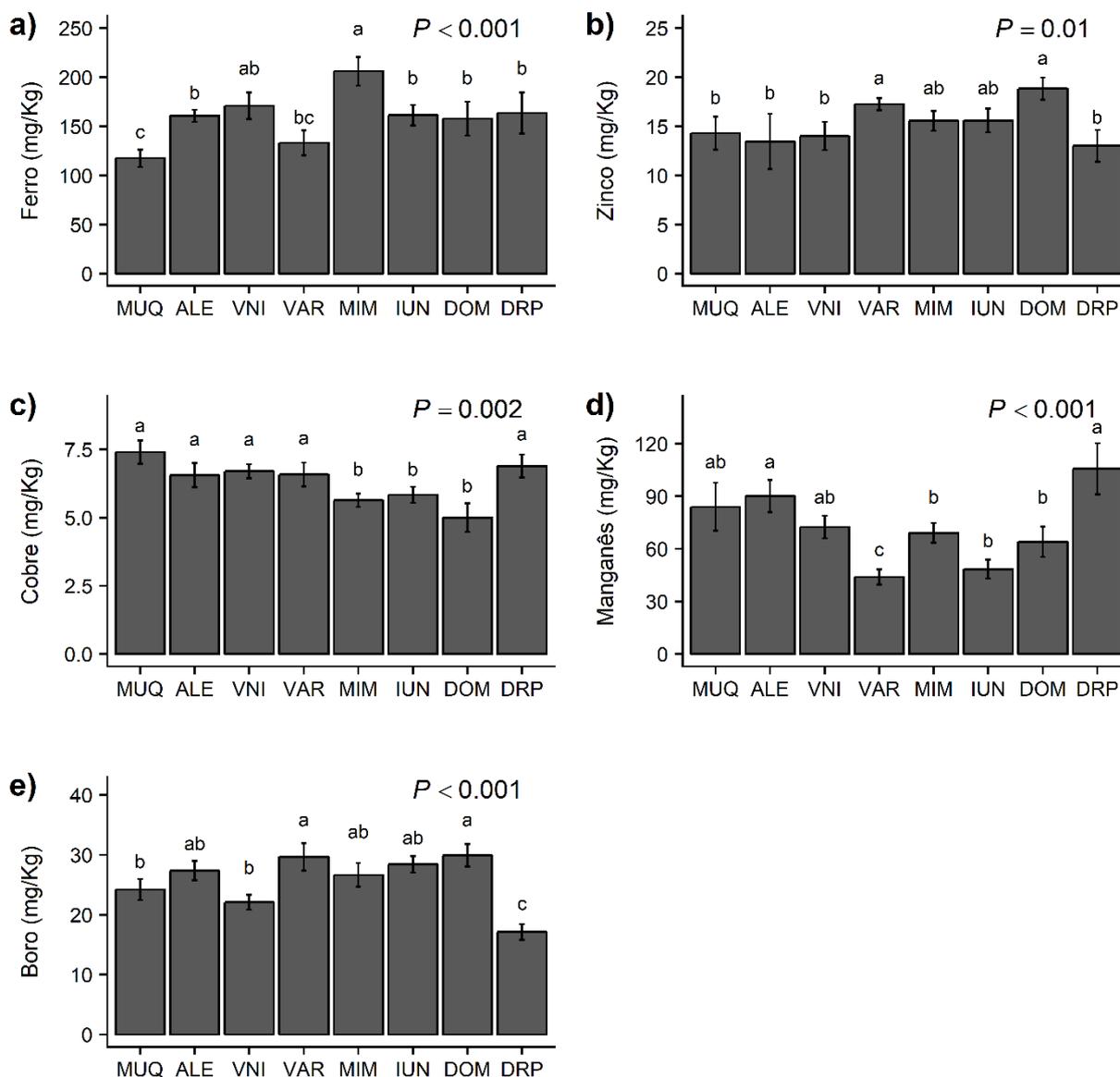
Houve diferença significativa no acúmulo de nutrientes entre as populações. As populações VAR, MIM, IUN e DRP apresentaram menor acúmulo de nitrogênio em relação as demais populações (Figura 6a). A população IUN apresentou menor acúmulo de fósforo em relação a MUQ, VNI, VAR, DOM e DRP (Figura 6b). As populações VAR, MIM e DRP apresentaram menor acúmulo de potássio em relação as populações MUQ, VNI e DOM (Figura 6c). As populações MUQ, ALE e MIM apresentaram menor acúmulo de cálcio em relação às populações VNI, VAR, IUN, DOM e DRP (Figura 6d). As populações VNI, VAR, IUN, DOM e DRP apresentaram maior acúmulo de magnésio em relação as populações MUQ, ALE e MIM (Figura 6e).

As populações MUQ e VAR apresentaram menor acúmulo de ferro em relação a VNI e MIM (Figura 7a). As populações MUQ, ALE, VNI, MIM, IUN e DRP apresentaram menor acúmulo de zinco em relação a VAR e DOM (Figura 7b). As populações MUQ, ALE, VNI, VAR e DRP apresentaram maior acúmulo de cobre em relação a MIM, IUN e DOM (Figura 7c). A população VAR apresentou menor acúmulo de manganês em relação a MUQ, ALE, VNI e DRP (Figura 7d). A população DRP apresentou menor acúmulo de boro em relação a ALE, VAR, MIM, IUN e DOM (Figura 7e).

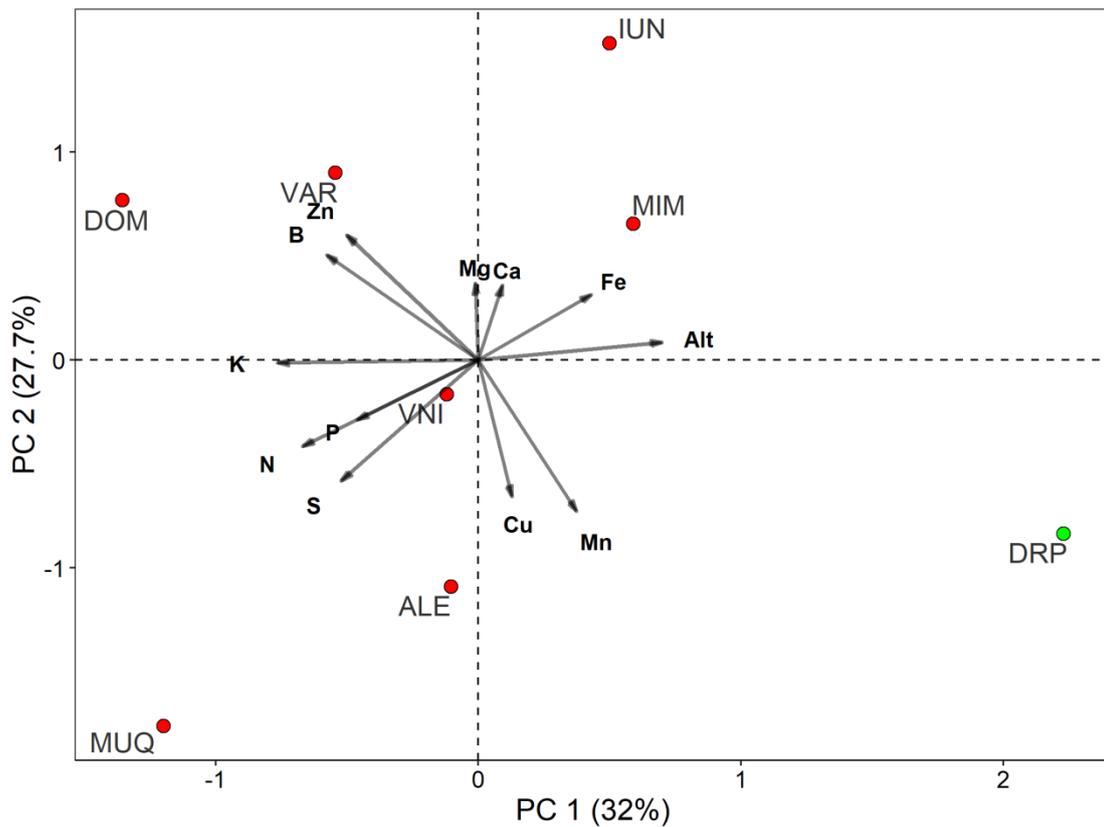
A análise de componentes principais (PCA) e a correlação de Mantel, realizadas somente com os valores de acúmulo de nutrientes foliares, indicam que a população DRP difere das demais por estar localizada em maior altitude e possuir, principalmente, maiores acúmulos de manganês e cobre e, menores acúmulos de boro, zinco e potássio (Figura 8).



**Figura 6.** Variação no acúmulo de macronutrientes ( $\text{g Kg}^{-1}$ ) em indivíduos de *Myrsine coriacea* oriundos de oito fragmentos de Floresta Atlântica ao longo de um gradiente de altitude, independente do fator sexo [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Iúna), DOM (Domingos Martins), DRP (Dores do Rio Preto)]. a) Nitrogênio, b) Fósforo, c) Potássio, d) Cálcio, e) Magnésio, f) Enxofre. São apresentados os valores de probabilidade de significância ( $P$ ) obtidos pelo teste não paramétrico de Dunn. Valores seguidos de mesma letra não diferem pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade.



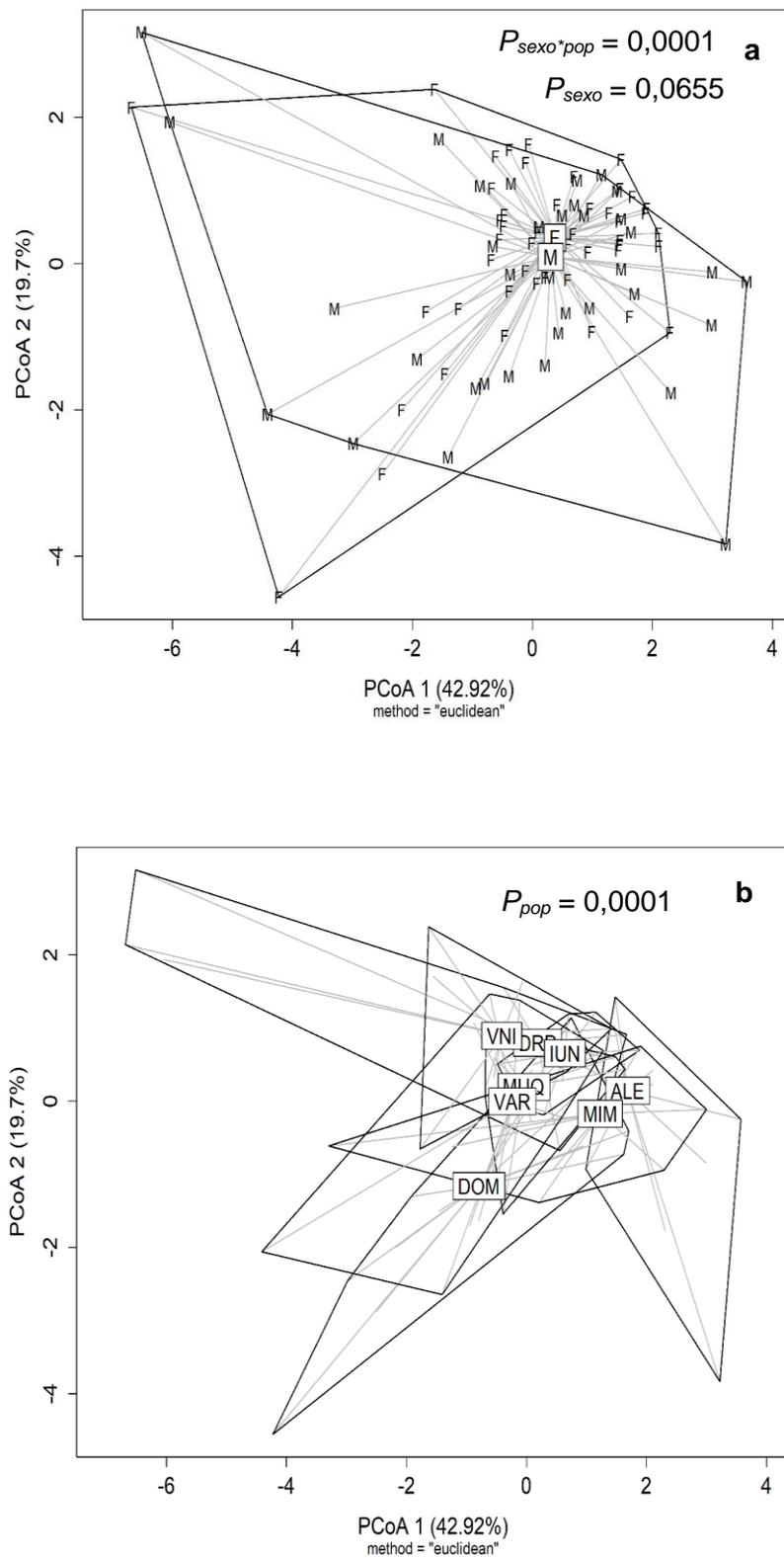
**Figura 7.** Variação no acúmulo de micronutrientes ( $\text{mg Kg}^{-1}$ ) em indivíduos de *Myrsine coriacea* oriundos de oito fragmentos de Floresta Atlântica ao longo de um gradiente de altitude, independente do fator sexo [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Íluna), DOM (Domingos Martins), DRP (Dores do Rio Preto)]. a) Ferro, b) Zinco, c) Cobre, d) Manganês, e) Boro. São apresentados os valores de probabilidade de significância ( $P$ ) obtidos pelo teste não paramétrico de Dunn. Valores seguidos de mesma letra não diferem pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade.



**Figura 8.** Análise de componentes principais (PCA) construída com base no acúmulo de nutrientes nos tecidos foliares em indivíduos de oito populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude (ALT) [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Iúna), DOM (Domingos Martins), DRP (Dores do Rio Preto)]. Populações representadas com símbolo de mesma coloração pertencem a um mesmo grupo pela correlação de Mantel.

### 6.3 Disponibilidade de nutrientes minerais no solo

A interação entre os fatores sexo e população foi significativa ( $P_{\text{sexo}*\text{pop}} = 0,0001$ ). A disponibilidade de nutrientes no solo foi significativamente diferente entre os sexos, porém essa resposta é dependente das condições de cada população (Figura 9). Não houve diferença significativa na disponibilidade de fósforo entre indivíduos femininos e masculinos, independentemente da população.

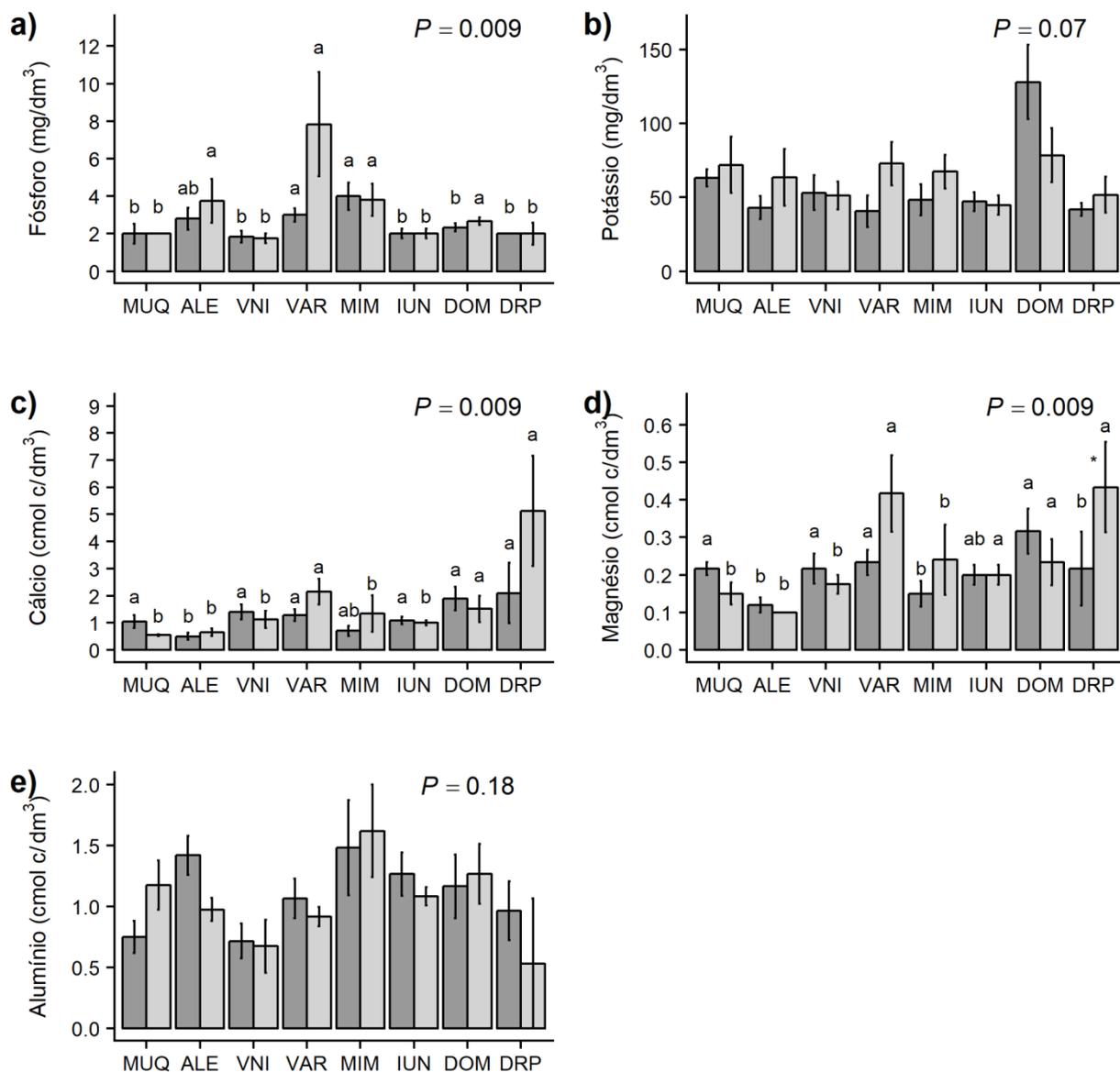


**Figura 9.** Análise de coordenadas principais (PCoA) construída com base na disponibilidade de nutrientes minerais no solo para indivíduos masculinos e femininos de oito populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude. (a) Variação entre indivíduos masculinos (M) e femininos (F). (b) Variação entre oito populações independente do fator sexo [Muqui (MUQ), Alegre, (ALE), Venda Nova do Imigrante (VNI), Vargem Alta (VAR), Mimoso do Sul (MIM), luna (IUN), Domingo Martins (DOM) e Dorés do Rio Preto (DRP)]. São apresentados os valores de probabilidade de significância ( $P$ ) obtidos pelo teste de PERMANOVA.

Solos onde estavam localizados os indivíduos femininos das populações de ALE, VAR e MIM apresentaram 34% mais fósforo em relação as populações MUQ, VNI, IUN, DOM e DRP. Indivíduos masculinos das populações ALE, VAR, MIM e DOM apresentaram solos com 57% mais fósforo em relação aos indivíduos masculinos das populações MUQ, VNI, IUN e DRP (Figura 10a).

Não houve diferença significativa na disponibilidade de cálcio entre indivíduos femininos e masculinos independentemente da população. Solos onde estavam localizados indivíduos femininos das populações ALE e MIM apresentaram 54% menos cálcio em relação as populações MUQ, VNI, VAR, IUN, DOM e DRP. Indivíduos masculinos das populações VAR, DOM e DRP apresentaram solos com 68% mais cálcio em relação as demais populações MUQ, ALE, VNI, MIM e IUN ( $P_{\text{cálcio}} = 0,009$ ) (Figura 10c).

Houve diferença significativa na disponibilidade de magnésio entre indivíduos femininos e masculinos somente da população DRP, onde, solos onde estavam localizados indivíduos masculinos apresentaram 51% mais magnésio comparado aos femininos (Figura 10d). Indivíduos femininos das populações MUQ, VNI, VAR, IUN e DOM apresentaram solos com 30% mais magnésio em relação as populações ALE, MIM e DRP. Indivíduos masculinos das populações VAR, IUN, DOM e DRP apresentaram solos com 45% mais magnésio em relação as populações MUQ, ALE, VNI e MIM ( $P_{\text{magnésio}} = 0,009$ ) (Figura 10d).



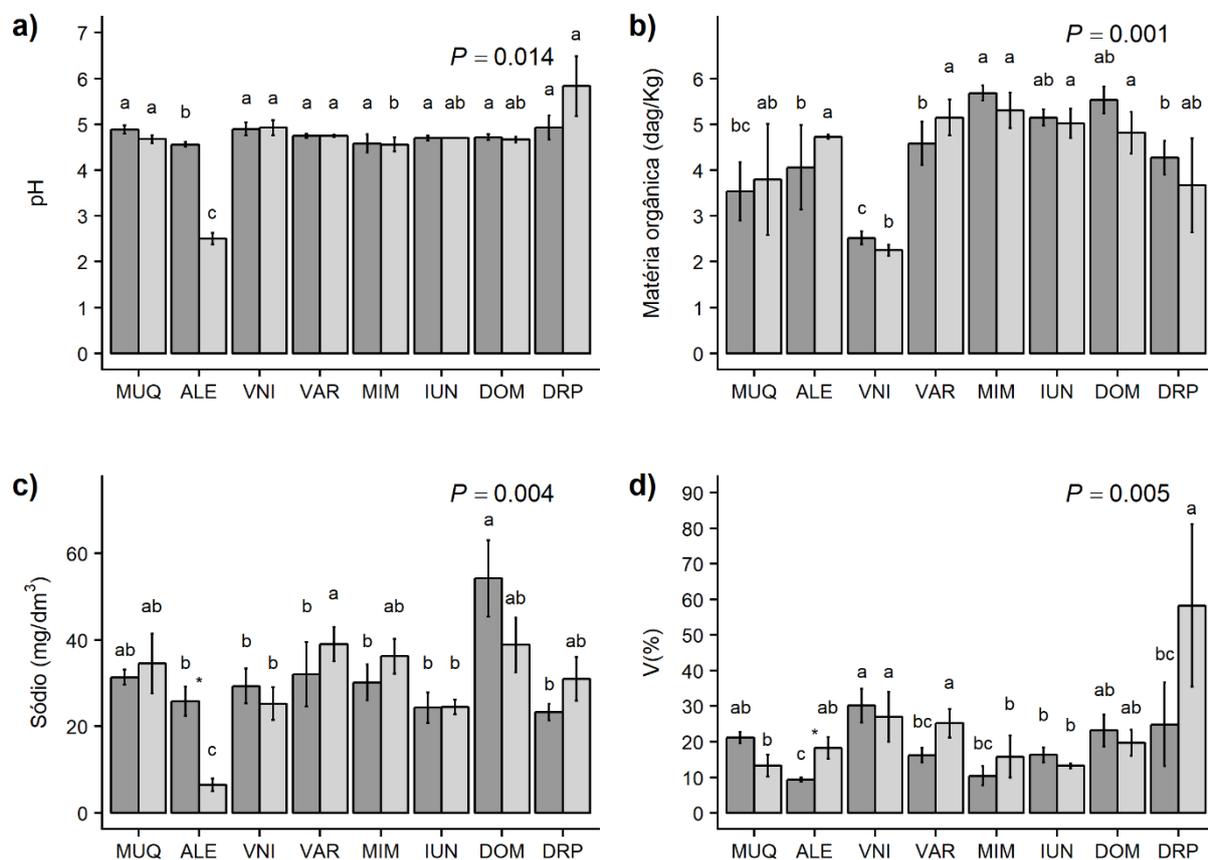
**Figura 10.** Variação na disponibilidade de nutrientes do solo para indivíduos femininos (barra cinza escuro) e masculinos (barra cinza clara) de *Myrsine coriacea* oriundos de oito fragmentos de Floresta Atlântica ao longo de um gradiente de altitude [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Íuna), DOM (Domingos Martins), DRP (Dores do Rio Preto)]. a) Fósforo, b) Potássio, c) Cálcio, d) Magnésio, e) Alumínio. São apresentados os valores de probabilidade de significância ( $P$ ) obtidos pelo teste não paramétrico de Dunn. Valores seguidos de mesma letra dentro de um mesmo sexo não diferem pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade.

Houve diferença significativa na disponibilidade de sódio entre indivíduos femininos e masculinos somente da população ALE, onde, solos onde estavam localizados indivíduos femininos apresentaram 74% mais sódio comparado aos indivíduos masculinos (Figura 11c). Indivíduos femininos das populações MUQ e DOM apresentaram solos com 33% mais sódio em relação as populações ALE, VNI, VAR, MIM, IUN e DRP. Indivíduos masculinos da população ALE apresentaram solos com 81% menos sódio em relação às populações MUQ, VAR, MIM, DOM e DRP ( $P_{\text{sódio}} = 0,004$ ) (Figura 11c).

Não houve diferença significativa no pH do solo entre indivíduos femininos e masculinos de uma mesma população. Solos onde estavam localizados indivíduos femininos da população ALE apresentaram um pH de 4,5, 5% menor comparado as populações MUQ, VNI, VAR, MIM, IUN, DOM e DRP. Indivíduos masculinos da população de ALE apresentaram solos com um pH de 2,5, 51% menor em relação as populações MUQ, VNI, VAR, MIM, IUN, DOM e DRP ( $P_{\text{pH}} = 0,014$ ) (Figura 11a).

Não houve diferença significativa na disponibilidade de matéria orgânica entre indivíduos femininos e masculinos de uma mesma população. Solos onde estavam localizados indivíduos femininos das populações MUQ e VNI apresentaram 44% menos matéria orgânica em relação as populações de MIM, IUN e DOM. Indivíduos masculinos das populações MUQ, VNI e DRP apresentaram solos com 27% menos matéria orgânica em relação as populações ALE, VAR, MIM, IUN e DOM ( $P_{\text{MO}} = 0,001$ ) (Figura 11b).

Houve diferença significativa no percentual de saturação de bases no solo entre indivíduos femininos e masculinos somente da população ALE, onde, solos onde estavam localizados indivíduos femininos apresentaram 50% menos saturação de bases no solo em relação aos indivíduos masculinos (Figura 11d). Indivíduos femininos das populações ALE, VAR, MIM e DRP apresentaram solos com uma saturação de bases 39% menor comparado com as populações MUQ, VNI e DOM. Indivíduos masculinos das populações ALE, VNI, VAR, DOM e DRP apresentaram uma saturação de bases 42% maior em relação as populações MUQ, MIM e IUN ( $P_{\text{V(\%)}} = 0,004$ ) (Figura 11d).



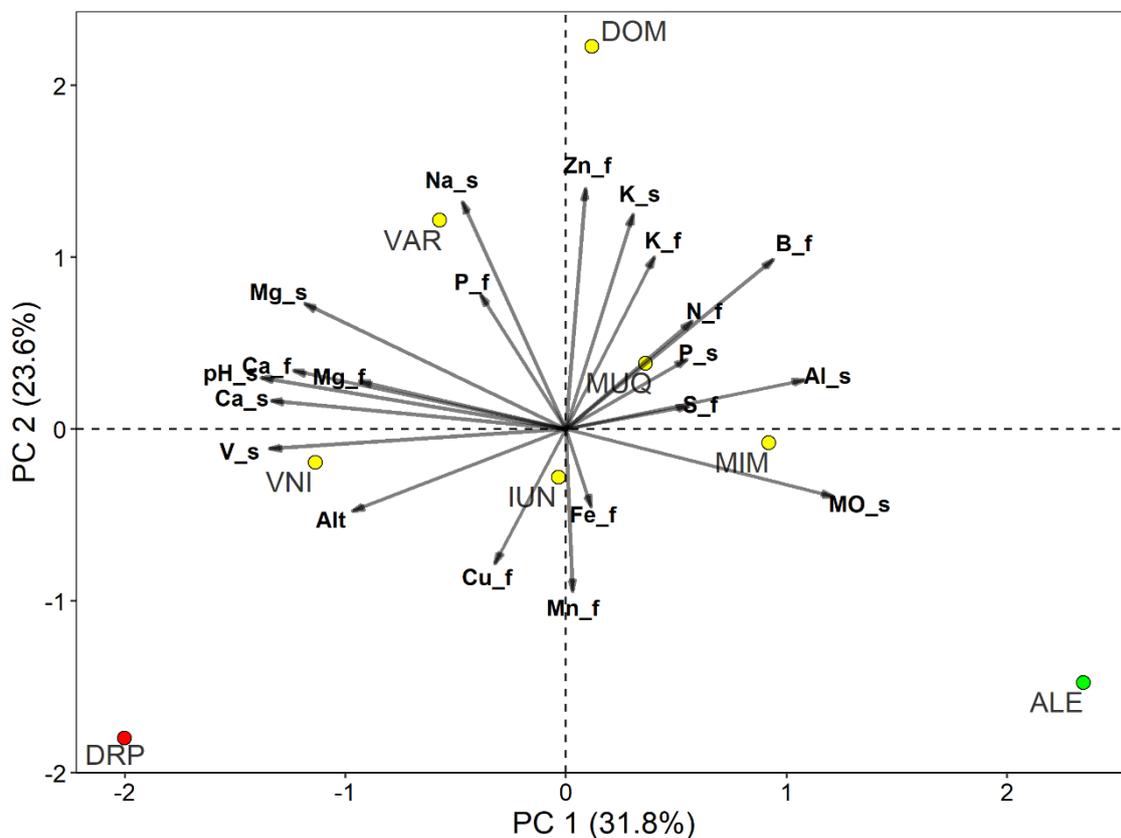
**Figura 11.** Variação na disponibilidade de nutrientes do solo para indivíduos femininos (barra cinza escuro) e masculinos (barra cinza clara) de *Myrsine coriacea* oriundos de oito fragmentos de Floresta Atlântica ao longo de um gradiente de altitude [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Iúna), DOM (Domingos Martins), DRP (Dores do Rio Preto)]. a) pH, b) Matéria Orgânica, c) Sódio, d) Saturação de bases [V (%)]. São apresentados os valores de probabilidade de significância ( $P$ ) obtidos pelo teste não paramétrico de Dunn. Valores seguidos de mesma letra dentro de um mesmo sexo não diferem pelo teste de Dunn a 5% de probabilidade.

#### *6.4 Relação as condições químicas do solo e a concentração de nutrientes no tecido foliar*

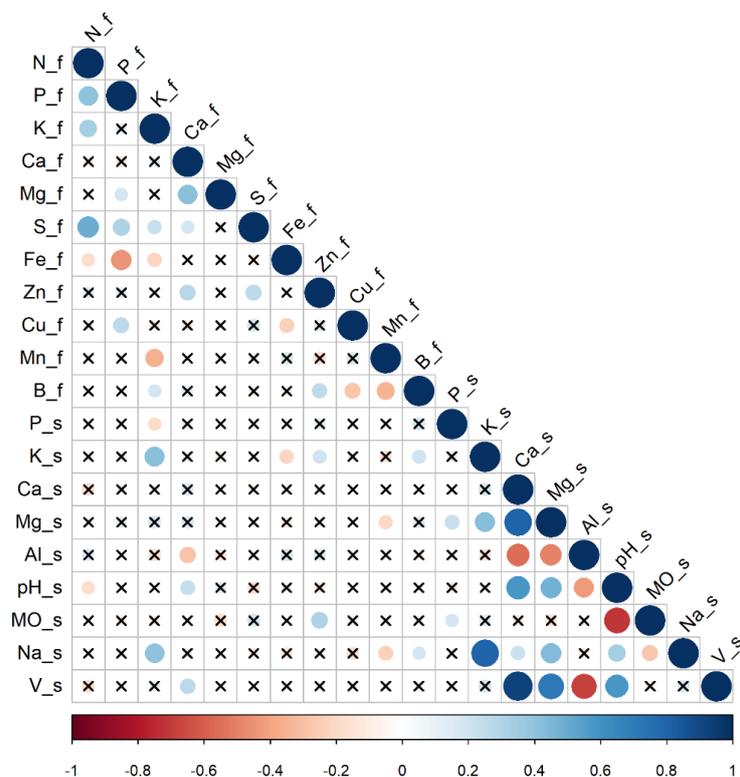
A seleção de variáveis e análise de redundância (RDA) mostraram que os nutrientes cálcio, magnésio, potássio, sódio e a saturação de bases do solo estão associados ao acúmulo de nutrientes foliares ( $P = 0,0029$ ). A PCA e a correlação de Mantel mostraram que a população DRP é diferente das demais por apresentar, vinculado à altitude, maior acúmulo foliar de manganês, cobre, magnésio e cálcio, maior disponibilidade de cálcio e magnésio no solo e maior saturação de bases e pH, bem como, menor acúmulo de boro foliar e menor disponibilidade de alumínio no solo (Figura 12).

O nutriente cálcio da folha correlaciona-se positivamente com magnésio foliar, pH e saturação de bases do solo, do mesmo modo, cálcio e magnésio do solo correlacionam-se positivamente com pH e saturação de bases, como observado na população DRP (Figura 12 e 13). As concentrações de potássio, cálcio e magnésio nas folhas foram associadas com a disponibilidade desses macronutrientes no solo. Entretanto, a disponibilidade de fósforo no solo não foi associada com a concentração desse macronutriente nos tecidos foliares. O alumínio do solo, em maior disponibilidade na população ALE, apresentou correlação negativa com magnésio, cálcio, saturação de bases e pH, assim como a matéria orgânica correlacionou-se negativamente com o pH (Figura 12 e 13).

A população DOM apresentou relação com maior acúmulo de potássio foliar e disponibilidade de potássio e sódio no solo, ambos nutrientes apresentaram correlações positivas (Figura 12 e 13). A população ALE é diferente das demais por apresentar maior acúmulo foliar de boro e manganês, maior disponibilidade de matéria orgânica e alumínio no solo, menor saturação de bases e pH, assim como, menor acúmulo foliar de cálcio e magnésio, menor disponibilidade de cálcio e magnésio no solo, menor saturação de bases e pH (Figura 12).



**Figura 12.** Análise de componentes principais (PCA) construída com base no acúmulo de nutrientes nos tecidos foliares e disponibilidade de nutrientes do solo em indivíduos de oito populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude [MUQ (Muqui), ALE (Alegre), VNI (Venda Nova do Imigrante), VAR (Vargem Alta), MIM (Mimoso do Sul), IUN (Iúna), DOM (Domingos Martins), DRP (Dores do Rio Preto)]. ALT (Altitude), \_s (Solo), \_f (Folha). Populações com a mesma coloração compõem um mesmo grupo pela correlação de Mantel.



**Figura 13.** Coeficiente de correlação de Pearson com base no acúmulo de nutrientes na folha e disponibilidade de nutrientes no solo em indivíduos de *Myrsine coriacea* de oito populações oriundas da Floresta Atlântica ao longo de um gradiente de concentração. Azul (correlações positivas), Vermelho (correlações negativas), X (ausência de correlações significativas), \_s (Solo), \_f (Folha). O tamanho maior e cor mais intensa do círculo, indicam maiores significâncias ( $P \leq 0,1$ ).

## 7. DISCUSSÃO

Indivíduos femininos de *M. coriacea* não acumulam menos carboidratos em relação aos indivíduos masculinos, independente da altitude. O sexo não demonstrou ser um fator que influencia no acúmulo desse recurso nos tecidos foliares. Entretanto, as populações apresentam um acúmulo diferencial de carboidratos, mostrando que a variação na concentração desse recurso na folha pode ser explicada pela plasticidade fenotípica e não pelo dimorfismo sexual. Os fatores abióticos impostos pelo ambiente podem tornar inexistentes os efeitos da dimorfismo sexual em *M. coriacea*, principalmente em maiores altitudes (Valente, 2017). Indivíduos femininos podem compensar seu alto investimento em reprodução desenvolvendo características que maximizem o ganho de carbono via fotossíntese. Para além, em algumas espécies dioicas, estruturas reprodutivas femininas apresentam altas taxas fotossintéticas durante o período de frutificação, comparado aos indivíduos masculinos (Hultine, 2016). Por investir os fotoassimilados para manter os maiores custos de reprodução, indivíduos femininos de *M. coriacea* podem apresentar um menor crescimento vegetativo em relação aos indivíduos masculinos. Tais fatos, ajudam a esclarecer as concentrações semelhantes de carboidratos no tecido foliar entre os sexos.

Por se tratar de uma espécie pioneira com ampla distribuição geográfica na Floresta Atlântica (Otegui, 1998), plantas de *M. coriacea* apresentam uma alta plasticidade fenotípica, principalmente, quando exposta à variações altitudinais (Moreira, 2015). A população DRP, exposta a maior altitude e menor temperatura, apresentou maior acúmulo de glicose e frutose e, menor acúmulo de amido, contrariamente à população MUQ, exposta a menor altitude e maior temperatura, que apresentou maior acúmulo de amido e menor de glicose e frutose. Em estudos realizados com cafeeiros encontraram-se resultados semelhantes, onde, constatou-se um maior acúmulo de glicose e frutose em plantas cultivadas em maiores altitudes e um maior acúmulo de amido em plantas cultivadas em menores altitudes (Silveira, 2014). O acúmulo de carboidratos não estruturais como glicose, frutose, sacarose e amido nos tecidos foliares está relacionado com a regulação de distintas vias metabólicas

(Martínez-Vilalta, 2016). Plantas expostas a condições de baixa oferta de carbono podem diminuir suas reservas de amido como forma de suprir as demandas do metabolismo. Por outro lado, plantas em condições de maior oferta de carbono e com menores demandas metabólicas, podem armazenar esse excedente de carbono e aumentar suas reservas energéticas (Sala *et al.*, 2012). Contudo, a dinâmica de armazenamento de carboidratos não estruturais em plantas lenhosas pode, ainda, seguir padrões de regulação gênica, onde, plantas com suprimento limitado de carboidratos podem inibir o crescimento à curto prazo, favorecendo o acúmulo de carboidratos de reserva (amido), como uma estratégia para otimizar o crescimento em longo prazo (Sala *et al.*, 2012; Sulpice *et al.*, 2009; Smith e Stitt, 2007).

A exposição a maior condição de altitude agregada a menor temperatura média influenciou o maior acúmulo de glicose e frutose e o menor de amido na população DRP. Embora o amido seja um composto de armazenamento para demandas metabólicas futuras, glicose e frutose desempenham uma variedade de funções imediatas como a osmorregulação, além de suportar o crescimento, respiração, defesa, estando envolvidos ainda em respostas à seca (Martínez-Vilalta, 2016), tolerância ao frio (Graham e Patterson, 1982) e manutenção do turgor (Hummel *et al.*, 2010). Baixas temperaturas, condição comumente encontrada em altitudes mais elevadas, são associadas com menores atividades da maquinaria enzimática e, conseqüentemente, afetam diretamente o metabolismo vegetal (Theocharis *et al.*, 2012). A diminuição da taxa de mineralização da matéria orgânica, diminuindo a disponibilidade de nutrientes no solo, também é verificada em comunidades localizadas em elevadas altitudes (Razavi *et al.*, 2015). Solos de florestas tropicais são, naturalmente, pobres em fósforo (Vitousek *et al.*, 2010), isso, agregado a baixa mineralização em elevadas altitudes, pode afetar a fotossíntese (Carstensen *et al.*, 2018; Ellsworth *et al.*, 2015; Jacob e Lawlor, 1991; Brooks, 1986), diminuindo a produtividade primária líquida da comunidade.

Menores temperaturas, ainda, afetam negativamente o crescimento radicular (Sebastian *et al.*, 2016; Alvarez e Körner, 2007) limitando a absorção de nutrientes. Para reverter este cenário, plantas expostas a tais condições estabelecem relações simbióticas com fungos micorrízicos para potencializar a

absorção de nutrientes (Pedranzani *et al.*, 2016; Zhu *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2002). Todavia, os custos são onerosos para a planta manter essa associação, o que dificulta o acúmulo de amido foliar em vegetais expostos a àquelas condições (Douds, Johnson e Koch, 1988) Outro apontamento possível seria a menor capacidade de absorção de água, gerando um déficit hídrico que afetaria a abertura estomática e, conseqüentemente, levaria a uma menor capacidade fotossintética (Zhu *et al.*, 2010) e, portanto, afeta o acúmulo de reservas na forma de amido. Destaca-se que a maior concentração dos carboidratos solúveis (glicose e frutose) pode ser uma alternativa de reajuste osmótico, como forma de potencializar a absorção de água, mantendo a hidratação dos tecidos foliares e, portanto, mantendo a fotossíntese (De Oliveira Joaquim *et al.*, 2018; (Martínez-Vilalta, 2016; Yooyongwech *et al.*, 2016; Ranney *et al.*, 1991). Tais fatos explicariam o menor acúmulo de amido e as elevadas taxas dos carboidratos solúveis glicose e frutose nos tecidos foliares na população DRP.

Indivíduos femininos também não apresentaram um menor acúmulo de nutrientes em relação aos indivíduos masculinos, independentemente da população. Do mesmo modo do acúmulo de carboidratos, os nutrientes foliares são diferencialmente acumulados em função das condições ambientais de cada população. Indivíduos femininos apresentam maior remobilização de nutrientes para produção dos frutos (Simancas *et al.*, 2016; Hultine, 2016), entretanto, considerando que a coleta foi realizada no final do período reprodutivo, o fator sexo não influenciou no acúmulo de nutrientes foliares, Estudos sobre os benefícios do estabelecimento de relações mutualísticas com fungos micorrízicos apontam que indivíduos femininos apresentam maiores taxas de colonização e, significativamente, maior benefício em termos de alocação de nutrientes do solo e acúmulo de biomassa total (Varga e Kytöviita, 2008), possibilitando que haja a manutenção do acúmulo de nutrientes foliares entre os sexos. Vale ressaltar, mesmo não investindo na produção de frutos, indivíduos masculinos devem investir recursos em outros processos metabólicos após a floração (Obeso, 2002; Case e Ashman, 2005) e que as pressões ambientais podem forçar diferentes processos fisiológicos a competir pelos mesmos recursos, tornando o crescimento, manutenção e reprodução atividades concorrentes assim, mesmo que indivíduos masculinos não estejam alocando

nutrientes para os frutos, investimentos em outras vias metabólicas podem ocorrer.

A população DRP mostrou ser diferente das demais devido a elevada altitude, maiores acúmulos de manganês, cálcio, ferro e magnésio nos tecidos foliares. Porém, apresentou baixas concentrações de nitrogênio, fósforo, potássio e boro em relação as outras populações que apresentaram maiores acúmulos desses nutrientes, especialmente, a população MUQ. Vinculada às condições de altitude, as baixas temperaturas verificadas em populações localizadas em elevadas altitudes, podem afetar as reações de decomposição da matéria orgânica, diminuindo, principalmente, a oferta de nitrogênio, fósforo e outros nutrientes no solo (Razavi *et al.*, 2015). Estudos com cafeeiros cultivados em maiores altitudes, mostraram que os níveis de ferro e manganês se mantiveram elevados nos tecidos foliares durante o período reprodutivo em relação aos cultivados em menores altitudes (Galvêas Laviola *et al.*, 2007). As variações ambientais interferindo no acúmulo de nutrientes foliares podem estar associadas com mecanismos de defesa às condições estressantes, alguns micronutrientes, como o ferro e o manganês, são cofatores enzimáticos de enzimas relacionadas com a remoção de espécies reativas de oxigênio (Burnell, 1988; Alscher, Erturk, Heath, 2002; Wang, 2003) e, portanto, ou diminuir os danos metabólicos, podem manter o funcionamento dos principais processos fisiológicos que ocorrem nas folhas.

Os fatores sexo e população interagem e influenciam na disponibilidade de nutrientes no solo durante o período reprodutivo, sendo assim, um nutriente com maior disponibilidade para os indivíduos masculinos em uma dada população, pode estar em maior disponibilidade no solo para indivíduos femininos em outra população. Logo, a disposição de nutrientes no solo é variável e dependente do sexo e da população que o indivíduo está inserido. A diferencial captação de nutrientes do solo entre indivíduos masculinos e femininos, principalmente durante o período reprodutivo, pode estar vinculada a estratégias ecofisiológicas que permitem diminuir a competição intraespecífica por um recurso, possibilitando que ambos os organismos coexistam no mesmo ambiente (Bolnick *et al.*, 2003; Lavorel *et al.*, 2007). Como as populações estão inseridas em distintas condições de altitude, temperatura e demais fatores

abióticos, entende-se que a plasticidade fenotípica e o dimorfismo sexual possam influenciar na disponibilidade de nutrientes no solo (Ryser e Eek, 2000). Constatou-se dimorfismo sexual para a disponibilidade dos nutrientes magnésio na população DRP e sódio, juntamente com índice de saturação de bases, na população ALE. Nas demais populações não se constatou dimorfismo sexual para as condições químicas e disponibilidade de nutrientes no solo, o que reforça a sugestão que haja uma determinante contribuição da plasticidade fenotípica para determinação dessas variáveis entre as populações (Sultan, 1993, 2000, 2003). Para mais, é importante ressaltar que não se constatou dimorfismo sexual na disponibilidade de fósforo no solo. Entretanto, a população DRP apresentou menos fósforo disponível em relação as outras populações, fato, que pode ter relação direta com as baixas temperaturas impostas por regiões em altitudes mais elevadas, influenciando negativamente a taxa de mineralização da matéria orgânica (Razavi *et al.*, 2015). Para contornar essa situação, sugere-se novamente que, interações com fungos micorrízicos possam ocorrer. As características do solo afetam a interação das plantas com fungos micorrízicos. Solos com alto pH, como na população DRP, e limitado fósforo favorecem a colonização de plantas por estes fungos potencializando a captação desse mineral (Varga e Kytöviita, 2010) Ainda, por suportar os altos custos para reprodução e manutenção da relação mutualística, indivíduos femininos são mais sensíveis a mudanças de fertilidade do solo comparado aos masculinos (Vega-Fruits e Guevara, 2009).

As populações DRP e ALE, presentes na maior e segundo menor condição de altitude, respectivamente, mostraram ser diferentes das demais em relação aos nutrientes presentes na folha e no solo. Espécies arbóreas podem influenciar a biogeoquímica do solo por meio da variação na quantidade e química de sua serapilheira, e impactos associados na comunidade heterotrófica do solo (Reich *et al.*, 2005). A *M. coriacea* por ser uma planta pioneira é predominante no ambiente nos estágios iniciais da sucessão ecológica, logo, a maior porção de serapilheira ao redor do dossel de cada indivíduo advém de suas próprias folhas (Dickow *et al.*, 2012; Scheer, 2008), assim, a liberação de alguns nutrientes no solo está relacionada com os nutrientes acumulados nos tecidos foliares.

As consideráveis concentrações de cálcio e magnésio foliar na população DRP estão atreladas aos teores desses nutrientes no solo, juntamente, estão correlacionados positivamente com o alto percentual de índice de saturação de bases e o pH mais próximo de 6,0. Espécies arbóreas ricas em cálcio foram associadas ao aumento da abundância e diversidade de minhocas nativas, bem como ao aumento do pH do solo, cálcio trocável, porcentagem de saturação por bases e taxa de renovação do solo (Reich *et al.*, 2005). Se observa, ainda, que correlações negativas entre cálcio, magnésio e índice de saturação de bases com os teores de alumínio, que obteve concentrações consideráveis no solo da população ALE. Para além, a população ALE apresentou baixas concentrações de cálcio, magnésio e sódio do solo, juntamente, com menores índices de saturação de bases e pH.

Diante de um cenário de mudanças climáticas globais e seus potenciais efeitos sobre a vegetação, indivíduos masculinos e femininos de *M. coriacea* tendem a parear seus mecanismos ecofisiológicos, sinalizando que as condições ambientais podem tornar inexistente os efeitos do dimorfismo sexual entre indivíduos da mesma população para o acúmulo de recursos, corroborando que em circunstâncias estressantes, a razão sexual em espécies dioicas pode ser afetada (Hultine, 2016). Entretanto, os mecanismos ecofisiológicos dos indivíduos respondem às condições ambientais impostas pelo ambiente daquela determinada população (Obeso 2002; Martínez-Vilalta 2016). Para potencializar o desempenho da espécie, as plantas de *M. coriacea* demonstraram uma habilidade de possuir uma diversidade características funcionais como forma de responder às diferentes demandas de recursos (Tilman, 2001). A menor competição por recursos, favorece a coexistência dos sexos e maximiza a exploração dos recursos do ambiente, como forma de potencializar o sucesso reprodutivo da espécie (Donovan *et al.*, 2011; Bolnick *et al.*, 2013). A utilização da *M. coriacea* como modelo para projetos de reflorestamento é justificada por seu bom desempenho ecofisiológico diante às heterogêneas condições ambientais, além de seu desempenho ecológico acelerando a regeneração natural da Floresta Atlântica.

## 8. CONCLUSÕES

O fator sexo não influencia no acúmulo diferencial de nutrientes e carboidratos entre indivíduos masculinos e femininos independente do gradiente de altitude. Entretanto, a nível populacional, verifica-se diferenças no acúmulo destes recursos entre populações estabelecidas nos extremos de altitude. Nossos achados apontam que plantas masculinas e femininas de *M. coriacea* devem apresentar variações nos mecanismos de produção/absorção, assimilação e/ou alocação de carboidratos e nutrientes, como forma de suprir os custos diferenciais de reprodução, mantendo a mesma concentração de carboidratos e nutrientes nos tecidos foliares.

## 9. REFERÊNCIAS

ACKERLY, D.D. et al. The evolution of plant ecophysiological traits: Recent advances and future directions. **BioScience** v. 50, p. 979–995, 2000.

ALKAMA, Ramdane; CESCATTI, Alessandro. Biophysical climate impacts of recent changes in global forest cover. **Science**, v. 351, n. 6273, p. 600-604, 2016.

ALSCHER, Ruth Grene; ERTURK, Neval; HEATH, Lenwood S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. **Journal of experimental botany**, v. 53, n. 372, p. 1331-1341, 2002.

ALVAREZ-URIA, P.; KÖRNER, Ch. Low temperature limits of root growth in deciduous and evergreen temperate tree species. **Functional ecology**, v. 21, n. 2, p. 211-218, 2007.

AMARAL, L. I. V. et al. Novo método enzimático rápido e sensível de extração e dosagem de amido em materiais vegetais. *Hoehnea*, 34, 425-431. 2007.

ANDERSON, Marti J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. **Austral ecology**, v. 26, n. 1, p. 32-46, 2001.

ATLÂNTICA, SOS Mata. Shape files dos remanescentes da Mata Atlântica por estado. **Fundação SOS Mata Atlântica & Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (Org.) Atlas dos remanescentes florestais da Mata Atlântica (Período 2013– 2014)**. Disponível em <https://www.sosma.org.br/>. Acesso em, v. 15, 2015.

BARRETT, Spencer CH; HOUGH, Josh. Sexual dimorphism in flowering plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 1, p. 67-82, 2012.

BARROSO, G. M.; PEIXOTO, A. L.; ICHASO; C. L. F.; GUIMARÃES, E. F. & COSTA, C. G. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Vol. 1. 2ª ed. Editora da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 443p, 2002.

BARRY, R. G. Mountain weather and climate. (Cambridge University Press: Cambridge, UK). 2008.

BEGNINI, R.M., & CASTELLANI, T.T. Seed rain under the canopies of female and male *Myrsine coriacea*, a pioneer tree from the Brazilian Atlantic forest. **Journal of Tropical Ecology** V. 29, p. 391 399, 2013.

BENNETT, Andrew F.; SAUNDERS, Denis A. Habitat fragmentation and landscape change. **Conservation biology for all**, v. 93, p. 1544-1550, 2010.

BIRHANE, Emiru et al. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance photosynthesis, water use efficiency, and growth of frankincense seedlings under pulsed water availability conditions. **Oecologia**, v. 169, n. 4, p. 895-904, 2012.

BOLNICK, D.L. et al. The Ecology of Individuals: Incidence and Implications of Individual Specialization. **The American Naturalist** v. 161, p. 1-28, 2003.

BORCARD, Daniel; GILLET, François; LEGENDRE, Pierre. Exploratory data analysis. In: **Numerical Ecology with R**. Springer, New York, NY, 2011. p. 9-30.

BURNELL, James N. The biochemistry of manganese in plants. In: **Manganese in soils and plants**. Springer, Dordrecht, 1988. p. 125-137.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. **Mata Atlântica**. Brasília, 2016. Disponível em: [http://www.mma.gov.br/biomas/mataatl%C3%A2ntica\\_emdesenvolvimento](http://www.mma.gov.br/biomas/mataatl%C3%A2ntica_emdesenvolvimento). Acesso em dez. 2018.

BRANCALION, P. H. S.; LIMA, L. R.; RODRIGUES, R. R. Restauração ecológica como estratégia de resgate e conservação da biodiversidade em paisagens antrópicas tropicais. **Conservação Da Biodiversidade Em Paisagens Antropizadas Do Brasil**. Ed. UFPR, Curitiba, 2013.

BROOKS, A. Effects of phosphorus nutrition on ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase activation, photosynthetic quantum yield and amounts of some Calvin-cycle metabolites in spinach leaves. **Functional Plant Biology**, v. 13, n. 2, p. 221-237, 1986.

CASE, A.L.; ASHMAN, T.L. Sex-specific physiology and its implications for the cost of reproduction. **Reproductive allocation in plants**, p. 129-157, 2005.

CASTRO, D. Práticas para restauração da mata ciliar. **Org: Dilton de Castro**, p. 2012, 2012.

CARSTENSEN, Andreas et al. The impacts of phosphorus deficiency on the photosynthetic electron transport chain. **Plant physiology**, p. pp. 01624.2017, 2018.

CORNELISSEN, Tatiana; STILING, Peter. Sex-biased herbivory: a meta-analysis of the effects of gender on plant-herbivore interactions. **Oikos**, v. 111, n. 3, p. 488-500, 2005.

DA SILVA, José Maria Cardoso; TABARELLI, Marcelo. Tree species impoverishment and the future flora of the Atlantic forest of northeast Brazil. **Nature**, v. 404, n. 6773, p. 72, 2000.

DA SILVA, Jeane Cabral et al. Sucessão ecológica no Cerrado. **FLOVET-Boletim do Grupo de Pesquisa da Flora, Vegetação e Etnobotânica**, v. 1, n. 1, 2012.

DE OLIVEIRA JOAQUIM, Emanuela et al. Diversity of reserve carbohydrates in herbaceous species from Brazilian campo rupestre reveals similar functional traits to endure environmental stresses. **Flora**, v. 238, p. 201-209, 2018.

DE REZENDE, C.L. et al. Atlantic Forest spontaneous regeneration at landscape scale. **Biodiversity and conservation**, v. 24, n. 9, p. 2255-2272, 2015.

DE SOUZA FERREIRA, Rômulo Quirino et al. Grupos ecológicos e distribuição das espécies em peculiares e acessórias de três áreas de cerrado sensu stricto, Tocantins. **Global Science and Technology**, v. 9, n. 3, 2017.

DIAS, Valeriam; FISCH, Gilberto; VIEIRA FISCH, Simey Thury. Simulações de clima futuro no domínio da mata atlântica: transecto Ubatuba, SP e Extrema, MG, Brasil. **Ambiente & Água-An Interdisciplinary Journal of Applied Science**, v. 11, 2016.

DINNO, A. R package dunn.test 'Dunn's Test of Multiple Comparisons Using Rank Sums' version 1.3. 5. 2017.

DICKOW, Kauana Melissa Cunha et al. Produção de serapilheira em diferentes fases sucessionais de uma floresta subtropical secundária, em Antonina, PR. **Cerne**, v. 18, n. 1, p. 75-86, 2012.

DO BRASIL, Senado Federal. Constituição da república federativa do Brasil. **Brasília: Senado Federal, Centro Gráfico**, 1988.

DOUDS, David D.; JOHNSON, Charles R.; KOCH, Karen E. Carbon cost of the fungal symbiont relative to net leaf P accumulation in a split-root VA mycorrhizal symbiosis. **Plant physiology**, v. 86, n. 2, p. 491-496, 1988.

DODD, Ian C.; PÉREZ-ALFOCEA, Francisco. Microbial amelioration of crop salinity stress. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, n. 9, p. 3415-3428, 2012.

DONOVAN, G.H. et al. Urban trees and the risk of poor birth outcomes. **Health & place**, v. 17, n. 1, p. 390-393, 2011.

DORNELES, Lucia Patricia P.; NEGRELLE, Raquel RB. Aspectos da regeneração natural de espécies arbóreas da Floresta Atlântica. **Iheringia. Série botânica**, v. 53, p. 85-100, 2000.

DOSWALD, Nathalie et al. Effectiveness of ecosystem-based approaches for adaptation: review of the evidence-base. **Climate and Development**, v. 6, n. 2, p. 185-201, 2014.

DUDLEY, Leah S. Ecological correlates of secondary sexual dimorphism in *Salix glauca* (Salicaceae). **American Journal of Botany**, v. 93, n. 12, p. 1775-1783, 2006.

DUNN, Olive Jean. Multiple comparisons using rank sums. **Technometrics**, v. 6, n. 3, p. 241-252, 1964.

ELLSWORTH, David S. et al. Phosphorus recycling in photorespiration maintains high photosynthetic capacity in woody species. **Plant, Cell & Environment**, v. 38, n. 6, p. 1142-1156, 2015.

FAHRIG, Lenore. Effects of habitat fragmentation on biodiversity. **Annual review of ecology, evolution, and systematics**, v. 34, n. 1, p. 487-515, 2003.

FERNANDEZ, Olivier et al. Burkholderia phytofirmans PsJN acclimates grapevine to cold by modulating carbohydrate metabolism. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 25, n. 4, p. 496-504, 2012.

FERREIRA, W.C. et al. Estabelecimento de mata ciliar às margens do reservatório da usina hidrelétrica de Camargos, MG. **Ciência Florestal** v.19, p. 69-81, 2009.

FISHER, Joshua B. et al. Nutrient limitation in rainforests and cloud forests along a 3,000-m elevation gradient in the Peruvian Andes. **Oecologia**, v. 172, n. 3, p. 889-902, 2013.

FREITAS, Maria de Fátima; CARRIJO, Tatiana Tavares. A família Myrsinaceae nos contrafortes do Maciço da Tijuca e entorno do Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Brasil. **Rodriguésia**, p. 813-828, 2008.

FREITAS, Maria de Fátima; KINOSHITA, Luiza Sumiko. Myrsine (Myrsinoideae-Primulaceae) in Southeastern and Southern Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 1, p. 167-189, 2015.

GALINDO-LEAL, Carlos; CÂMARA, I. de G. Atlantic Forest hotspot status: an overview. **The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook**, v. 1, p. 3-11, 2003.

GALVÊAS LAVIOLA, Bruno et al. Acúmulo de nutrientes em frutos de cafeeiro em duas altitudes de cultivo: micronutrientes. **Revista brasileira de ciência do solo**, v. 31, n. 6, 2007.

GEBLER, A. et al. Ecophysiology of selected tree species in different plant communities at the periphery of the Atlantic Forest of SE-Brazil II. Spatial and ontogenetic dynamics in *Andira legalis*, a deciduous legume tree. **Trees**, v. 19, n. 5, p. 510-522, 2005.

GRAHAM, DABDP; PATTERSON, Brian D. Responses of plants to low, nonfreezing temperatures: proteins, metabolism, and acclimation. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 33, n. 1, p. 347-372, 1982.

HEISKA, Susanne et al. Bark salicylates and condensed tannins reduce vole browsing amongst cultivated dark-leaved willows (*Salix myrsinifolia*). **Chemoecology**, v. 17, n. 4, p. 245-253, 2007.

HULTINE, K. R. et al. Gender-specific patterns of aboveground allocation, canopy conductance and water use in a dominant riparian tree species: *Acer negundo*. **Tree physiology**, v. 28, n. 9, p. 1383-1394, 2008.

HULTINE, Kevin R. et al. Climate change perils for dioecious plant species. **Nature Plants**, v. 2, p. 16109, 2016.

HOLL, K. D. Restoring Tropical Forest. **Nature Education Knowledge**, Ithaca, v. 4, n. 4, p. 4, 2013.

HOPE, R. M. Rmisc: Ryan miscellaneous. **R package version**, v. 1, n. 5, 2013.

HOUGHTON, R. A. Carbon emissions and the drivers of deforestation and forest degradation in the tropics. **Current Opinion in Environmental Sustainability**, v. 4, n. 6, p. 597-603, 2012.

HUMMEL, Irène et al. Arabidopsis thaliana plants acclimate to water deficit at low cost through changes of C usage; an integrated perspective using growth, metabolite, enzyme and gene expression analysis. **Plant physiology**, p. pp. 110.157008, 2010.

JACOB, J.; LAWLOR, D. W. Stomatal and mesophyll limitations of photosynthesis in phosphate deficient sunflower, maize and wheat plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 42, n. 8, p. 1003-1011, 1991.

JONES, Clive G.; HARTLEY, Susan E. A protein competition model of phenolic allocation. **Oikos**, p. 27-44, 1999.

JUNG-MENDAÇOLLI, S. L.; BERNACCI, L. C.; FREITAS, M. F. Myrsinaceae. **Flora fanerogâmica do estado de São Paulo**, v. 4, p. 279-300, 2005.

KASCHUK, Glaciela et al. Are the rates of photosynthesis stimulated by the carbon sink strength of rhizobial and arbuscular mycorrhizal symbioses?. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 41, n. 6, p. 1233-1244, 2009.

LAURANCE, William F. et al. Rain forest fragmentation and the proliferation of successional trees. **Ecology**, v. 87, n. 2, p. 469-482, 2006.

LEGENDRE, Pierre; LEGENDRE, Louis. Complex ecological data sets. In: **Developments in environmental modelling**. Elsevier, 2012. p. 1-57.

LIU, T. et al. Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth, water status, and photosynthesis of hybrid poplar under drought stress and recovery. **Photosynthetica**, v. 53, n. 2, p. 250-258, 2015.

LÜTTGE, U. et al. Physiological ecology of photosynthesis of five sympatric species of Velloziaceae in the rupestrian fields of Serra do Cipó, Minas Gerais, Brazil. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 202, n. 8, p. 637-646, 2007.

LÜTTGE, U. et al. Evo–Devo–Eco and ecological stem species: potential repair systems in the planetary biosphere crisis. In: **Progress in Botany**. Springer Berlin Heidelberg, 2013. p. 191-212, 2012.

LORENZI, Harri. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. **Nova Odessa: Editora Plantarum 352p.-col. illus.. Por Geog**, v. 4, 1992.

MARIAN, Calin O.; KREBS, Stephen L.; ARORA, Rajeev. Dehydrin variability among rhododendron species: a 25-kDa dehydrin is conserved and associated with cold acclimation across diverse species. **New Phytologist**, v. 161, n. 3, p. 773-780, 2004.

MARTÍNEZ-VILALTA, Jordi et al. Dinâmica de carboidratos não estruturais em plantas terrestres: uma síntese global. **Monografias ecológicas**, v. 86, n. 4, p. 495-516, 2016.

MAGNAGO, Luiz Fernando S. et al. Functional attributes change but functional richness is unchanged after fragmentation of Brazilian Atlantic forests. **Journal of ecology**, v. 102, n. 2, p. 475-485, 2014.

MANTOVANI, Waldir. A degradação dos biomas brasileiros. **Patrimônio ambiental brasileiro**, p. 367-439, 2003.

MITTERMEIER, R.A. et al. **Hotspots revisited**: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions, 2. ed. University of Chicago Press, Boston, 2005.

MUNNÉ-BOSCH, S. Sex ratios in dioecious plants in the framework of global change. **Environmental and experimental botany**, v. 109, p. 99-102, 2015.

MOREIRA, VINICIUS FERREIRA. **Desempenho Ecofisiológico de uma Espécie Dioica (Myrsine Coriacea) em Diferentes Fitofisionomias da**

**Floresta Atlântica**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo – UFES, 2015.

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853, 2000.

MCARDLE, Brian H.; ANDERSON, Marti J. Fitting multivariate models to community data: a comment on distance-based redundancy analysis. **Ecology**, v. 82, n. 1, p. 290-297, 2001.

MCCAIN, Christy M.; GRYTNES, J. Arvid. Elevational gradients in species richness. **Encyclopedia of life sciences (ELS)**, p. 1-10, 2010.

MCGILL, Brian J. et al. Rebuilding community ecology from functional traits. **Trends in ecology & evolution**, v. 21, n. 4, p. 178-185, 2006.

NERY, Emanoela Rodrigues Amorim et al. O conceito de restauração na literatura científica e na legislação brasileira. **Revista CAITITU-aproximando pesquisa ecológica e aplicação**, v. 1, n. 1, p. 43-56, 2013.

OBESO, José Ramón. The costs of reproduction in plants. **New Phytologist**, v. 155, n. 3, p. 321-348, 2002.

OTEGUI, M. Sinopsis del genero *Myrsine* L. **Myrsinaceae) en el Cono Sur de America del Sur. (A synopsis of the genus Myrsine L. (Myrsinaceae) of southern South America.) Candollea**, v. 53, n. 1, p. 133-157, 1998.

OKSANEN, Jari et al. Package 'vegan'. **Community ecology package, version**, v. 2.4-3, 2018.

ORDOÑEZ, Jenny C. et al. A global study of relationships between leaf traits, climate and soil measures of nutrient fertility. **Global Ecology and Biogeography**, v. 18, n. 2, p. 137-149, 2009.

PACHAURI, Rajendra K. et al. **Climate change 2014: synthesis report. Contribution of Working Groups I, II and III to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. IPCC, 2014.

PARDINI, Renata et al. Beyond the fragmentation threshold hypothesis: regime shifts in biodiversity across fragmented landscapes. **PloS one**, v. 5, n. 10, p. e13666, 2010.

PEDRANZANI, H. et al. Arbuscular mycorrhizal symbiosis regulates physiology and performance of *Digitaria eriantha* plants subjected to abiotic stresses by modulating antioxidant and jasmonate levels. **Mycorrhiza**, v. 26, n. 2, p. 141-152, 2016.

PINESCHI, Renato Balielro. Aves como dispersores de sete espécies de *Rapanea* (Myrsinaceae) no maciço do Itatiaia, estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais. **Ararajuba**, v. 1, n. 1, p. 73-78, 1990.

POLLOCK, C. J. Tansley review no. 5 fructans and the metabolism of sucrose in vascular plants. **New Phytologist**, v. 104, n. 1, p. 1-24, 1986.

PÜTZ, S. et al. Fragmentation drives tropical forest fragments to early successional states: a modelling study for Brazilian Atlantic forests. **Ecological Modelling**, v. 222, n. 12, p. 1986-1997, 2011.

RANNEY, Thomas G.; BASSUK, Nina L.; WHITLOW, Thomas H. Osmotic adjustment and solute constituents in leaves and roots of water-stressed cherry (*Prunus*) trees. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, v. 116, n. 4, p. 684-688, 1991.

RAZAVI, Bahar S.; BLAGODATSKAYA, Evgenia; KUZUYAKOV, Yakov. Nonlinear temperature sensitivity of enzyme kinetics explains canceling effect—a case study on loamy haplic Luvisol. **Frontiers in microbiology**, v. 6, p. 1126, 2015.

REICH, Peter B. et al. Linking litter calcium, earthworms and soil properties: a common garden test with 14 tree species. **Ecology letters**, v. 8, n. 8, p. 811-818, 2005.

RENAUT, Jenny; HOFFMANN, Lucien; HAUSMAN, Jean-Francois. Biochemical and physiological mechanisms related to cold acclimation and enhanced freezing tolerance in poplar plantlets. **Physiologia Plantarum**, v. 125, n. 1, p. 82-94, 2005.

RICHARDSON, Andrew D. et al. Ecosystem warming extends vegetation activity but heightens vulnerability to cold temperatures. **Nature**, v. 560, n. 7718, p. 368, 2018.

RUELLAND, Eric et al. Cold signalling and cold acclimation in plants. **Advances in botanical research**, v. 49, p. 35-150, 2009.

RYSER, Peter; EEK, Liina. Consequences of phenotypic plasticity vs. interspecific differences in leaf and root traits for acquisition of aboveground and belowground resources. **American Journal of Botany**, v. 87, n. 3, p. 402-411, 2000.

SALA, Anna; WOODRUFF, David R.; MEINZER, Frederick C. Carbon dynamics in trees: feast or famine?. **Tree physiology**, v. 32, n. 6, p. 764-775, 2012.

SEBASTIAN, Nagelmüller; ERIKA, Hiltbrunner; CHRISTIAN, Körner. Critically low soil temperatures for root growth and root morphology in three alpine plant species. **Alpine botany**, v. 126, n. 1, p. 11-21, 2016.

SÁNCHEZ-VILAS, Julia; BERMÚDEZ, Raimundo; RETUERTO, Rubén. Soil water content and patterns of allocation to below- and above-ground biomass in the sexes of the subdioecious plant *Honckenya peploides*. **Annals Of Botany**, S.I., v. 4, n. 110, p.839-848, 9 jul. 2012.

SILVEIRA, Helbert Rezende de Oliveira. Variação sazonal de atributos ecofisiológicos e metabólicos de café arábica em três altitudes. **Tese de Doutorado em Agronomia/ Fisiologia Vegetal**, Universidade Federal de Lavras – UFLA, 2014.

SIMANCAS, Bárbara et al. Sex-related differences in photoinhibition, photo-oxidative stress and photoprotection in stinging nettle (*Urtica dioica* L.) exposed to drought and nutrient deficiency. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 156, p. 22-28, 2016.

SIMINSKI, Alexandre et al. Sucessão florestal secundária no município de São Pedro de Alcântara, litoral de Santa Catarina: estrutura e diversidade. **Ciência florestal**, v. 14, n. 1, p. 21-33, 2004.

SULPICE, Ronan et al. Starch as a major integrator in the regulation of plant growth. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 25, p. 10348-10353, 2009.

SULTAN, Sonia E. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. **Trends in plant science**, v. 5, n. 12, p. 537-542, 2000.

SULTAN, Sonia E. Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development. **Evolution & development**, v. 5, n. 1, p. 25-33, 2003.

SULTAN, S. E.; BAZZAZ, F. A. Phenotypic plasticity in *Polygonum persicaria*. III. The evolution of ecological breadth for nutrient environment. **Evolution**, v. 47, n. 4, p. 1050-1071, 1993.

SCARANO, F. R. & GARBIN, M.L. Stem species: plant species that function as regenerating cells of Gaia. **Nova Acta Leopoldina NF**, v. 114, n. 391, p. 317-324, 2013.

SCHIMTZ, M. C. Banco de sementes no solo em áreas do reservatório da UHE Paraibuna. **KAGEYAMA, PY Recomposição da vegetação com espécies arbóreas nativas em reservatórios de usinas hidrelétricas da CESP.. SÉRIE IPEF, Piracicaba**, v. 8, n. 25, p. 7-8, 1992.

SCHEER, Mauricio Bergamini. Decomposição e liberação de nutrientes da serapilheira foliar em um trecho de floresta ombrófila densa aluvial em regeneração, Guaraqueçaba (PR). **Floresta**, v. 38, n. 2, 2008.

SCHENKER, Gabriela et al. Physiological minimum temperatures for root growth in seven common European broad-leaved tree species. **Tree physiology**, v. 34, n. 3, p. 302-313, 2014.

SHIMAMOTO, C.Y.; BOTOSSO, P. C.; MARQUES, M.C.M. How much carbon is sequestered during the restoration of tropical forests? Estimates from tree species in the Brazilian Atlantic forest. **Forest ecology and management**, v. 329, p. 1-9, 2014.

SMITH, Alison M.; STITT, Mark. Coordination of carbon supply and plant growth. **Plant, cell & environment**, v. 30, n. 9, p. 1126-1149, 2007.

SMITH, William K. et al. The altitude of alpine treeline: a bellwether of climate change effects. **The Botanical Review**, v. 75, n. 2, p. 163-190, 2009.

STÅHL, B. & ANDERBERG, A. A. Myrsinaceae. *In*: Kubtski, K. (Ed.). **The families and genera of vascular plants – VI. Flowering plants dicotyledons**. Celastrales, Oxalidales, Rosales, Cornales, Ericales. Springer, Berlin. p. 266–281, 2004.

STEFFEN, W. et al. The Anthropocene: From global change to planetary stewardship. **AMBIO: A Journal of the Human Environment**, v. 40, n. 7, p. 739-761, 2011.

TAIZ, Lincoln et al. **Fisiologia e desenvolvimento vegetal**. Artmed Editora, 2017.

TABARELLI, M. et al. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 132-138, 2005.

TABARELLI, Marcelo; MANTOVANI, Waldir. Colonização de clareiras naturais na floresta atlântica no sudeste do Brasil. **Brazilian Journal of Botany**, v. 20, n. 1, p. 57-66, 1997.

TEAM, R. Core. R: A Language and Environment for Statistical Computing. 2018.

TILMAN, David. Functional diversity. **Encyclopedia of biodiversity**, v. 3, n. 1, p. 109-120, 2001.

THEOCHARIS, Andreas; CLÉMENT, Christophe; BARKA, Essaïd Ait. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures. **Planta**, v. 235, n. 6, p. 1091-1105, 2012.

UEMURA, Matsuo; STEPONKUS, Peter L. Cold acclimation in plants: relationship between the lipid composition and the cryostability of the plasma membrane. **Journal of Plant Research**, v. 112, n. 2, p. 245-254, 1999.

VALENTE, C. S. **Efeito do dimorfismo sexual e da fenologia no desempenho ecofisiológico de uma espécie dioica (*Myrsine coriacea*) na Floresta Atlântica**. 2017. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Espírito Santo.

VALLADARES, Fernando; GIANOLI, Ernesto; GÓMEZ, José M. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. **New phytologist**, v. 176, n. 4, p. 749-763, 2007.

VARGA, Sandra; KYTÖVIITA, Minna-Maarit. Sex-specific responses to mycorrhiza in a dioecious species. **American Journal of Botany**, v. 95, n. 10, p. 1225-1232, 2008.

VARGA, Sandra; KYTÖVIITA, Minna-Maarit. Interrelationships between mycorrhizal symbiosis, soil pH and plant sex modify the performance of *Antennaria dioica*. **Acta Oecologica**, v. 36, n. 3, p. 291-298, 2010.

VEGA-FRUTIS, Rocío; GUEVARA, Roger. Different arbuscular mycorrhizal interactions in male and female plants of wild *Carica papaya* L. **Plant and Soil**, v. 322, n. 1-2, p. 165, 2009.

VITOUSEK, Peter M. Beyond global warming: ecology and global change. **Ecology**, v. 75, n. 7, p. 1861-1876, 1994.

VITOUSEK, Peter M. et al. Human domination of Earth's ecosystems. **Science**, v. 277, n. 5325, p. 494-499, 1997.

VITOUSEK, Peter M. et al. Terrestrial phosphorus limitation: mechanisms, implications, and nitrogen–phosphorus interactions. **Ecological applications**, v. 20, n. 1, p. 5-15, 2010.

WANG, B. et al. Phosphorus-32 absorption and translocation to host plants by arbuscular mycorrhizal fungi at low root-zone temperature. **Mycorrhiza**, v. 12, n. 2, p. 93-96, 2002.

WANG, Jieyi et al. Physiologically relevant metal cofactor for methionine aminopeptidase-2 is manganese. **Biochemistry**, v. 42, n. 17, p. 5035-5042, 2003.

WELLING, Annikki; PALVA, E. Tapio. Molecular control of cold acclimation in trees. **Physiologia Plantarum**, v. 127, n. 2, p. 167-181, 2006.

WRIGHT, I.J. et al. The worldwide leaf economics spectrum. **Nature**, v. 428, n. 6985, p. 821, 2004.

YUE, Chuan et al. Effects of cold acclimation on sugar metabolism and sugar-related gene expression in tea plant during the winter season. **Plant molecular biology**, v. 88, n. 6, p. 591-608, 2015.

YOOYONGWECH, Suravoot et al. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) improved water deficit tolerance in two different sweet potato genotypes involves osmotic adjustments via soluble sugar and free proline. **Scientia horticulturae**, v. 198, p. 107-117, 2016.

ZHU, Xian-Can; SONG, Feng-Bin; XU, Hong-Wen. Arbuscular mycorrhizae improves low temperature stress in maize via alterations in host water status and photosynthesis. **Plant and Soil**, v. 331, n. 1-2, p. 129-137, 2010.