



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

JÉSSICA PRISCILLA PEREIRA

**COMO AS MUDANÇAS CLIMÁTICAS PODERÃO AFETAR O BALANÇO DE
CARBONO DE ESPÉCIES ARBÓREAS DA FLORESTA ATLÂNTICA?
EXPERIMENTOS EM JARDINS COMUM E UTILIZAÇÃO DA ESPÉCIE *Myrsine
coriacea* COMO MODELO**

VITÓRIA – ES
2022

JÉSSICA PRISCILLA PEREIRA

**COMO AS MUDANÇAS CLIMÁTICAS PODERÃO AFETAR O BALANÇO DE
CARBONO DE ESPÉCIES ARBÓREAS DA FLORESTA ATLÂNTICA?
EXPERIMENTOS EM JARDINS COMUM E UTILIZAÇÃO DA ESPÉCIE *Myrsine
coriacea* COMO MODELO**

Tese de Doutorado 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 Doutora em Biologia Vegetal.

Área de concentração: Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Cezar Cavatte

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

P436c Pereira, Jéssica Priscilla, 1991-
Como as mudanças climáticas poderão afetar o balanço de carbono de espécies arbóreas da floresta atlântica? Experimentos em jardins comum e utilização da espécie *Myrsine coriacea* como modelo / Jéssica Priscilla Pereira. - 2022.
122 f. : il.

Orientador: Paulo Cezar Cavatte.
Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de Ciências Humanas e Naturais.

1. Aquecimento global. 2. Fotossíntese. 3. Influência de altitude. 4. Ecofisiologia vegetal. 5. Florestas tropicais. I. Cavatte, Paulo Cezar. II. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro de Ciências Humanas e Naturais. III. Título.

CDU: 57

Jéssica Priscilla Pereira

**COMO AS MUDANÇAS CLIMÁTICAS PODERÃO AFETAR O
BALANÇO DE CARBONO DE ESPÉCIES ARBÓREAS DA
FLORESTA ATLÂNTICA? EXPERIMENTOS EM JARDINS COMUM
E UTILIZAÇÃO DA ESPÉCIE *Myrsine coriacea* COMO MODELO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Humanas e Naturais, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do Grau de Doutor em Biologia Vegetal.

Aprovada em 18 de março de 2022.

Comissão Examinadora:



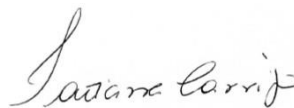
Prof. Dr. Paulo Cezar Cavatte (UFES)
Orientador e Presidente da Comissão



Prof. Dr. Antelmo Ralph Falqueto (UFES)
Examinador Interno



Prof. Dr. Elias Terra Werner (UFES)
Examinador Interno



Prof^a Dr^a Tatiana Tavares Carrijo (UFES)
Examinadora Externa



Prof. Dr. Nelson Facundo Rodríguez López (UIS)
Examinador Externo

Aos meu pais, Graça e Vicente.

Ao meu esposo, Wesley.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me conduzido, abençoado e guardado em mais uma jornada.

A Universidade Federal do Espírito Santo, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) pela oportunidade da realização do curso de doutorado.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Espírito Santo (FAPES), pela concessão da bolsa de doutorado (PROCAP 08/2017) e financiamento do projeto (FAPES/VALE 525/2016).

Aos meus pais, Graça e Vicente, pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha vida. Eu não teria chegado até aqui se não fosse o amor, cuidado e a luta de vocês!

Ao meu esposo Wesley por todo amor, paciência, carinho e cuidado. Obrigada por toda ajuda em campo e laboratório, você é um ótimo estagiário! Rs

Ao Prof. Dr. Paulo Cezar Cavatte, pela orientação e parceria ao longo de todo o meu caminho na Pós-Graduação.

Aos amigos do grupo de Ecofisiologia, em especial ao Josimar e Vinícius por toda ajuda em campo. E a Angélica, por além da parceria em nossas atividades, ser presente na minha vida. Obrigada pela sua amizade, seu zelo e cuidado... Que você brilhe muito e alcance voos cada vez mais altos!

Aos amigos do Labot Filipe, Jaqueline, Jhenifer, Karina, Renan e Thamara pelas risadas e momentos de desabafos.

A minha grande amiga Carolina Bernardes, por sempre me ouvir e ter uma palavra de conforto...

Aos meus padrinhos, Claudivan e Aparecida, e ao meu irmão Allyson, pelo apoio, conselhos e orações.

A família Cornélio Dias, por toda preocupação e palavras de conforto ao longo dessa caminhada.

Aos professores Dr. Antelmo Ralph Falqueto, Dr. Elias Terra Werner, Dr^a. Tatiana Tavares Carrijo, Dr. Nelson Facundo Rodríguez López por aceitarem participar da banca e pelas importantes contribuições.

Meu muito obrigado a todos!

“Não fui eu que lhe ordenei? Seja forte e corajoso! Não se apavore, nem se desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”.

Josué 1:9

RESUMO

A compreensão de como espécies dioicas tropicais lidam com diferentes condições ambientais ainda é limitada. A incapacidade de lidar com condições adversas, pode levar a diminuição no desempenho (fotossintético e de crescimento) e sucesso reprodutivo, causando declínios populacionais. O objetivo do trabalho foi estudar como as variações ambientais, verificadas ao longo de um gradiente de altitude, afetam a capacidade fotossintética da espécie dioica *Myrsine coriacea*. Na primeira etapa do estudo (**Capítulo 1**), investigamos como os atributos de características secundárias da espécie dioica *M. coriacea* variam em um gradiente altitudinal. Oitenta plantas (40 indivíduos machos e 40 indivíduos fêmeas) foram selecionadas em sete populações naturais. Foram analisadas as características foliares morfológicas, estomáticas e a composição isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$). Plantas fêmeas apresentaram maiores $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em relação aos machos, resultado associado com a maior capacidade de carboxilação. Plantas de ambos os sexos apresentaram estômatos menores e maior eficiência no uso da água em altitudes mais elevadas, menor $\delta^{15}\text{N}$ e maiores relações carbono-nitrogênio em menores altitudes. Características estomáticas e de venação apresentaram falta de coordenação, que foi compensada pela variação na área foliar específica. Na segunda etapa (**Capítulo 2**), determinamos 33 características funcionais relacionadas com o desempenho fotossintético (dez características foliares, sete características anatômicas e 16 relacionadas com as trocas gasosas e fluorescência da clorofila a) de plantas de *M. coriacea* provenientes de quatro altitudes de origem (630, 910, 1.229 e 2.019 m) cultivadas em jardim comum situado em alta (HA; 914 m) e baixa altitude (LA; 108 m). Em LA houve mortalidade de todas as plantas provenientes de 2.019 m. A assimilação líquida de CO_2 e a respiração no escuro foram maiores em HA em relação a LA, independentemente da altitude de origem. Plantas em LA apresentaram uma maior pressão oxidativa sobre a maquinaria fotossintética (maior relação ETR/A_g) em relação as plantas em HA, independentemente da altitude de origem. Em LA, independentemente da altitude de origem, a fotorrespiração representou aproximadamente 60% da fotossíntese bruta, valor 50% superior ao verificado nas plantas em HA. Em HA, plantas provenientes de 2.019 m apresentaram adaptação

local em características foliares (menor área foliar específica e tamanho dos estômatos; maior densidade de tricomas) que foram relacionadas com menor transpiração e capacidade fotossintética. Concluímos que, com o aumento de temperatura em decorrência das mudanças climáticas, plantas em maiores altitudes apresentarão menor capacidade adaptativa, enquanto plantas de baixa/média altitude responderão com modificações morfológicas, evitando o déficit hídrico. Contudo, estas modificações poderão limitar a capacidade fotossintética e aumentar a possibilidade de ocorrência de estresse oxidativo.

Palavras-chave: Altitude • aquecimento global • eficiência no uso da água • fotoinibição • fotossíntese • plasticidade fenotípica

ABSTRACT

The understanding of how tropical dioecious species cope with different environmental conditions is still limited. The inability to cope with adverse conditions can lead to decreased performance (photosynthetic and growth) and reproductive success, causing population declines. The objective of this work was to study how the environmental variations, verified along an altitude gradient, affect the photosynthetic capacity of the dioecious species *Myrsine coriacea*. In the first stage of the study (**Chapter 1**), we investigated how the attributes of secondary traits of the dioecious species *M. coriacea* vary in an altitudinal gradient. Eighty plants (40 males and 40 females) were selected from seven natural populations. Leaf morphological and stomatal characteristics and isotopic composition of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$) were analyzed. Female plants showed higher $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ compared to males, a result associated with a higher carboxylation capacity. Plants of both sexes had smaller stomata and greater water use efficiency at higher altitudes, lower $\delta^{15}\text{N}$ and higher carbon-nitrogen ratios at lower altitudes. Stomatal and venation characteristics showed a lack of coordination, which was compensated by variation in specific leaf area. In the second step (**Chapter 2**), we determined 33 functional characteristics related to photosynthetic performance (ten leaf characteristics, seven anatomical characteristics and 16 related to gas exchange and chlorophyll a fluorescence) of *M. coriacea* plants from four altitudes of origin. (630, 910, 1229 and 2019 m) cultivated in a common garden located at high (HA; 914 m) and low altitude (LA; 108 m). In LA there was mortality of all plants from 2019 m. Net CO_2 assimilation and dark respiration were higher in HA compared to LA, regardless of the altitude of origin. Plants in LA showed a higher oxidative pressure on the photosynthetic machinery (higher ratio ETR/A_g) compared to plants in HA, regardless of the altitude of origin. In LA, regardless of the altitude of origin, photorespiration represented approximately 60% of gross photosynthesis, a value 50% higher than that observed in plants in HA. In HA, plants from 2019 m showed local adaptation in leaf characteristics (lower specific leaf area and stomata size; higher trichome density) that were related to lower transpiration and photosynthetic capacity. We conclude that, with the increase in temperature as a result of climate change, plants at higher altitudes will have a

lower adaptive capacity, while plants at low/medium altitudes will respond with morphological changes, avoiding water deficit. However, these modifications may limit the photosynthetic capacity and increase the possibility of oxidative stress.

Keywords: Altitude • global warming • phenotypic plasticity • photoinhibition • photosynthesis • water use efficiency

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Localização das sete populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude na Floresta Atlântica. Canto superior esquerdo, localização do Brasil na América do Sul. Abaixo, à esquerda, Região Sudeste do Brasil em que se localizam as populações (estados: RJ - Rio de Janeiro, ES - Espírito Santo, MG - Minas Gerais e BA - Bahia). À direita, as localizações das sete populações com suas respectivas altitudes em metros.....53

Figura 2 . Etapas do processo de diafanização. **a)** fragmentos foliares em solução de hidróxido de sódio a 10% em estufa a 60°C; **b)** amostra clarificada após aproximadamente 12 h em solução aquosa de hipoclorito de sódio 0,5%; **c)** adição de safranina aquosa a 1% em fragmentos clarificados; **d)** Montagem das lâminas.....54

Figura 3. Análises de coordenadas principais (PCoA) de 80 indivíduos de *Myrsine coriacea* distribuídos ao longo de um gradiente altitudinal da Floresta Atlântica. Oito características foram usadas: comprimento da célula-guarda (L), condutância estomática máxima (g_{wmax}), área foliar específica (SLA), densidade de nervuras (VD), densidade de tricomas (TD), composição isotópica do carbono foliar ($\delta^{13}C$), composição isotópica do nitrogênio da folha ($\delta^{15}N$) e razão carbono da folha para nitrogênio (C/N). **a)** machos (M) fêmeas (F); **b)** as sete populações representadas em um gradiente de cor azul de tons mais claros a mais escuros para altitudes mais baixas a mais altas, respectivamente. Sexo, em **(a)**, e valores altitudinais, em **(b)**, são mostrados nos centroides para cada população. As linhas contínuas representam o convex-hull para cada grupo. As linhas cinzas são a distância de cada planta individual aos seus respectivos centroides para sexo, em **(a)**, e população, em **(b)**. Os valores P para comparações de grupos são mostrados no canto superior direito de cada figura.58

Figura 4. Gráfico da análise canônica de coordenadas principais (CAP) de 80 indivíduos de *Myrsine coriacea* (pontos) distribuídos ao longo de um gradiente altitudinal (escala azul) na Floresta Atlântica. Oito características foram usadas: L (comprimento da célula-guarda), g_{wmax} (condutância estomática máxima), SLA (área foliar específica), VD (densidade de venação), TD (densidade de tricomas), $\delta^{13}C$ (composição isotópica do carbono da folha), $\delta^{15}N$ (composição isotópica de nitrogênio foliar) e C/N (razão carbono foliar para nitrogênio). O sexo (M, masculino; F, feminino) e as altitudes das populações (em metros) são plotados em seus centroides. O valor P foi gerado por permutação e compara grupos populacionais.60

Figura 5. Boxplots descrevendo as distribuições de valores para plantas fêmeas e machos de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude na Floresta Atlântica, para atributos/parâmetros que diferiram significativamente entre os sexos. (a) razão entre a concentração interna e ambiente de CO₂ (C_i/C_a); (b) composição isotópica do carbono da folha ($\delta^{13}C$); (c) concentração foliar de nitrogênio (N); (d) relação carbono-nitrogênio da folha (C/N). Os valores de P foram obtidos usando um teste PERMANOVA. As caixas representam o intervalo interquartil com uma linha horizontal para a mediana e os hastes representando o intervalo interquartil 1,5* ou o ponto máximo e mínimo. Os pontos representam pontos fora do intervalo interquartil 1,5*.....62

Figura 6. Epiderme abaxial de folhas de *Myrsine coriacea* apresentando características de tamanho de estômatos, nervuras e de tricomas entre a população de menor (39 m; a, c e e) e maior altitude (2.174 m; b, d e f). (a) e (b), estômatos; (c) e (d), padrões de nervuras foliares; (e) e (f), tricomas. Em (e), um único tipo de tricoma (tipo glandular 1) é representado pela seta. Em (f), cada uma das três setas diferentes representa três tipos diferentes de tricomas: seta mais longa e fina, um tricoma não glandular (uniseriado não ramificado); seta maior, um tricoma glandular tipo 2; a seta intermediária mostra um tricoma glandular tipo 165

Figura 7. Valores médios populacionais de características estomáticas e foliares de *Myrsine coriacea* em função da altitude na Floresta Atlântica. (a) comprimento da célula de guarda (L); (b) comprimento do poro estomático (p); (c) índice de área de poros estomáticos (SPI); (d) condutância estomática máxima (g_{wmax}) (e) área foliar específica (SLA); (f) densidade de venação (VD). A área cinza representa o erro padrão. R^2 é o coeficiente de determinação. P é a significância do modelo de regressão.....67

Figura 8. Coeficientes de correlação de Pearson para características estomáticas e morfológicas foliares e composições isotópicas de carbono ($\delta^{13}C$) e nitrogênio ($\delta^{15}N$) avaliadas em sete populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude na Floresta Atlântica. Baseado nas seguintes características: razão entre a composição foliar de carbono e nitrogênio (C/N); razão entre a concentração interna e ambiente de CO₂ (C_i/C_a); condutância estomática máxima (g_{wmax}); comprimento da célula de guarda (L); concentração foliar de nitrogênio (N); comprimento do poro estomático (p); densidade estomática (SD); área foliar específica (SLA); índice de área de poros estomáticos (SPI); densidade de tricomas (TD); densidade da venação (VD); composição isotópica do carbono foliar ($\delta^{13}C$); composição isotópica do nitrogênio foliar ($\delta^{15}N$). A tonalidade azul representa valores de correlação positivos, enquanto a tonalidade vermelha representa valores negativos. Cores mais escuras indicam valores mais próximos

de 1 ou -1. Significância, *** $P \leq 0,001$; ** $P \leq 0,01$, * $P \leq 0,05$. Para siglas, consulte a Tabela 1.68

CAPÍTULO 2

Figura 1. Repicagem das plântulas de *Myrsine coriacea* para tubetes de polipropileno (a), após a repicagem, as mudas foram mantidas sob telas de poliolefinas (Sombrite®) com retenção de 50% de radiação (b)..... 92

Figura 2 . Transferência de mudas *Myrsine coriacea* para vasos de três litros contendo como substrato uma proporção de 3:1 de substrato comercial (Tropstrato®, HT hortaliças) e areia (a e b). Após a transferência, as mudas permaneceram no viveiro floresta localizado em Jerônimo Monteiro-ES até a montagem dos experimentos em campo (c)..... 92

Figura 3. Croqui detalhando o desenho experimental. O delineamento utilizado foi de blocos casualizados com tratamentos dispostos em pares dentro de cada bloco. Círculos em cinza simbolizam bordadura..... 95

Figura 4. Análises de coordenadas principais (PCoA) para sete tratamentos (657-HA, 930-HA, 1.229-HA, 2.019-HA, 657-LA, 930-LA, 1.229-LA) baseada em características de crescimento, morfológicas foliares, potencial hídrico, anatômicas e parâmetros de trocas gasosas de árvores de *Myrsine coriacea*. Os pontos no centro de cada grupo indicam a posição do centroide. As linhas contínuas representam o *convex-hull* para cada grupo. As linhas cinzas são a distância de cada planta individual aos seus respectivos centroides. Valor de probabilidade (P) obtido por PERMANOVA.102

Figura 5. Variação na taxa de crescimento relativo da altura do caule (RGR_H ; a), número de ápices (NA; b), distância média dos entrenós (MDE; c), área foliar unitária (ULA; d), área foliar específica (SLA; e), espessura foliar (LT; f), potencial hídrico na antemanhã ($\Psi_{w_{pd}}$; g); potencial hídrico do ramo ($\Psi_{w_{pm}}$; h), condutância hidráulica foliar (K_{leaf} ; i); densidade de tricomas (TD; j), densidade estomática (SD; k), comprimento da célula guarda (L; l), comprimento do poro estomático (p ; m) e condutância estomática máxima (g_{wmax} ; n) entre sete tratamentos da espécie *Myrsine coriacea* em duas condições de jardins comum. Letras diferentes indicam diferença significativa entre as populações pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).....106

Figura 6. Epiderme abaxial evidenciando o padrão estomático [(a) 657-HA; (b) 2.019-HA] em folhas de árvores de *Myrsine coriacea* em condição de jardim comum em alta altitude (HA) na Floresta Atlântica.107

Figura 7. Variação na taxa de assimilação líquida de CO_2 (A ; a - b), condutância estomática (g_s ; c - d), concentração intracelular de CO_2 (C_i (e - f), taxa de

transpiração (E ; **g-h**) e respiração no escuro (R_d ; **i**) entre sete tratamentos da espécie *Myrsine coriacea* em duas condições de jardins comum. Análises realizadas entre 8h30min-10h30min (am) e 14h30mim-16h30min (pm). Letras diferentes indicam diferença significativa entre as populações pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).108

Figura 8. Variação no rendimento quântico potencial do fotossistema II às 4h ($F_v/F_{m_{pd}}$; **a**), rendimento quântico efetivo do FSII ($Y(II)$; **b - c**) e dissipação regulada de energia térmica via ciclo das xantofilas ($Y(NPQ)$; **d - e**), taxa de transporte de elétrons (ETR; **f - g**), razão entre a taxa de transporte de elétrons e a taxa de fotossíntese bruta (ETR/ A_g ; **h - i**), razão entre a taxa de fotorrespiração e a taxa de fotossíntese bruta (R_d/A_g ; **j - k**) entre sete tratamentos da espécie *Myrsine coriacea* em duas condições de jardins comum. Análises realizadas entre 8h30min-10h30min (am) e 14h30mim-16h30min (pm). Letras diferentes indicam diferença significativa entre as populações pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$). 109

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1. Porcentagem da soma total dos quadrados explicada pelo modelo (sexo e altitude, R^2), por cada fator (sexo, altitude) e o termo de interação (sexo*altitude) usando PERMANOVA para árvores de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude na Floresta Atlântica. Características estomáticas: SD (densidade estomática), L (comprimento da célula-guarda), p (comprimento dos poros estomáticos), SPI (índice de poros estomáticos) e g_{wmax} (condutância estomática máxima). Características morfológicas da folha: SLA (área foliar específica), VD (densidade da veia), TD (densidade de tricomas), $\delta^{13}C$ (composição isotópica do carbono foliar), composição isotópica $\delta^{15}N$ do nitrogênio foliar), C_i/C_a (razão entre a concentração interna e ambiente de CO_2), N (concentração de nitrogênio foliar) e C/N (razão entre a composição foliar de carbono e nitrogênio). Os valores são a soma dos quadrados dividida pela soma total dos quadrados; R^2 é a soma dos quadrados dos tratamentos dividido pela soma dos quadrados total; significativo em *** $P < 0,001$, ** $P < 0,01$, * $P < 0,05$ usando estatística F.....61

Tabela 2. Valores médios e coeficiente de variação (CV%) para características estomáticas, morfológicas foliares e composição isotópica foliar de carbono e nitrogênio em árvores de *Myrsine coriacea* distribuídas em sete populações ao longo de um gradiente de altitude da Floresta Atlântica. As altitudes estão em metros. Consulte a Tabela 1 para siglas. As médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente ($P \leq 0,05$; teste de Scott-Knott).....64

CAPÍTULO 2

Tabela 1. Temperatura do ar (T_{ar}), amplitude térmica, déficit de pressão de vapor (DPV) e parâmetros químicos do solo (pH: potencial hidrogeniônico; P: fósforo; K: potássio; Na: sódio; Ca: cálcio; Mg: magnésio; Al: alumínio; MO: matéria orgânica) de jardim comum localizados em baixa (LA; 108 m) e alta (HA; 914 m) altitude na Floresta Atlântica.....94

Tabela 2. Porcentagem da variação total explicada pelo modelo (R^2) considerando a PERMANOVA, coeficiente de variação (CV) e média (\bar{X}) para característica de crescimento, morfológicas foliares, potencial hídrico e anatômicas da espécie *Myrsine coriacea* para sete tratamentos em dois jardins comum.....103

Tabela 3. Porcentagem da variação total explicada pelo modelo (R^2) considerando a PERMANOVA, coeficiente de variação (CV) e média (\bar{X}) para os parâmetros de trocas gasosas da espécie *Myrsine coriacea* para sete tratamentos em dois jardins comum.104

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A	Taxa da assimilação líquida de CO ₂
A_g	Taxa de assimilação bruta de CO ₂
A_g/E	Razão entre fotossíntese bruta e transpiração
Al	Alumínio
ALT	Altitude
Ca	Cálcio
C_i	Concentração intracelular de CO ₂
CG	Jardim comum
Cl_a	Clorofila a
Cl_a/ Cl_b	Razão entre a concentração de Clorofila a e Clorofila b
Cl_b	Clorofila b
Cl_T	Clorofilas totais
CAP	Análise canônica de coordenadas principais
CV	Coefficiente de variação
C/N	Relação carbono e nitrogênio
DPV	Déficit de pressão de vapor do ar
E	Transpiração
ea	Pressão parcial de vapor
es	Saturação de vapor de água
ETR	Taxa de transporte de elétrons
ETR/A_g	Razão entre a taxa de transporte de elétrons e fotossíntese bruta
F_v/F_m	Rendimento quântico potencial do fotossistema II
g_s	Condutância estomática
g_{wmax}	Condutância estomática máxima
HA	Alta altitude
K	Potássio
K_{leaf}	Condutância hidráulica foliar
L	Comprimento da célula guarda
LA	Baixa altitude
LT	Espessura foliar

MDE	Distância média dos entrenós
Mg	Magnésio
MO	Matéria orgânica
N	Nitrogênio
Na	Sódio
NA	Número de ápices caulinar
P	Fósforo
<i>p</i>	Comprimento do poro estomático
PCoA	Análises de coordenadas principais
pH	Potencial hidrogeniônico
R_d	Respiração noturna
R_p	Fotorrespiração
R_p/A_g	Relação entre a fotorrespiração e fotossíntese bruta
RGR_H	Taxa de crescimento relativo da altura do caule
RGR_D	taxa de crescimento relativo do diâmetro do caule
SD	Densidade estomática
SLA	Área foliar específica
SPI	índice de área de poro estomático
T_{ar}	Temperatura do ar
TD	Densidade de tricomas
ULA	Área foliar unitária
VD	Densidade de venação
Y(II)	Rendimento quântico efetivo do FSII
Y(NPQ)	Dissipação regulada de energia térmica via ciclo das xantofilas
Y(NO)	Dissipação de energia constitutiva e na forma de fluorescência
δ¹³C	Composição isotópica de carbono 13
δ¹⁵N	Composição isotópica de nitrogênio 15
Ψ_{wpd}	Potencial hídrico na antemanhã
Ψ_{wpm}	Potencial hídrico do ramo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	21
2. OBJETIVO GERAL	24
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	24
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	25
4.1. A Floresta atlântica no cenário das Mudanças climáticas.....	25
4.2. Mudanças climáticas e o metabolismo de carbono.....	28
4.3. Investigações ecofisiológicas: Experimento em gradientes de altitude Vs. Jardins comuns	29
4.4. Como o aumento de altitude interfere na fisiologia das plantas.....	31
4.5. Os efeitos da dioicia em espécies vegetais	32
4.6. <i>Myrsine coriacea</i> (Sw.) R. Br. ex Roem & Schult.....	33
5. REFERÊNCIAS	35
CAPÍTULO 1 - A FALTA DE COORDENAÇÃO ENTRE OS TRAÇOS ESTOMÁTICOS E DE VENAÇÃO PROPORCIONA BENEFÍCIOS FUNCIONAIS À ESPÉCIE TROPICAL DIOICA <i>MYRSINE CORIACEA</i>	45
RESUMO	46
ABSTRACT	47
1. INTRODUÇÃO.....	48
2. MATERIAL E MÉTODOS	52
2.1. Amostragem	52
2.2. Características estomáticas e densidade de venação e tricomas	54
2.3. Área foliar específica e composição isotópica de carbono e nitrogênio.....	55
2.4. Análise de dados	56
3. RESULTADOS.....	57
4. DISCUSSÃO.....	68

5. CONCLUSÃO	75
6. REFERÊNCIAS	76
CAPÍTULO 2 - COMO AS MUDANÇAS CLIMÁTICAS PODERÃO AFETAR A FOTOSSÍNTESE LÍQUIDA DE ESPÉCIES ARBÓREAS DA FLORESTA ATLÂNTICA? RESPOSTAS UTILIZANDO EXPERIMENTOS EM JARDINS COMUM E UMA ESPÉCIE DE AMPLA DISTRIBUIÇÃO	85
RESUMO	86
ABSTRACT	87
1. INTRODUÇÃO.....	88
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	90
2.1. Produção de mudas	90
2.2. Caracterização dos locais experimentais	93
2.3. Condições experimentais	94
2.4. Avaliações	95
2.4.1. Análises de crescimento, morfológicas foliares e de clorofilas	96
2.4.2. Características estomáticas e densidade de venação e tricomas ...	97
2.4.3. Potencial hídrico foliar e condutividade hidráulica foliar	98
2.4.4. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila <i>a</i>	99
2.5. Análises estatísticas	100
3. RESULTADOS.....	101
4. DISCUSSÃO.....	110
5. CONCLUSÃO	115
6. REFERÊNCIAS.....	117

1. INTRODUÇÃO GERAL

Em climas tropicais, existe uma grande lacuna associada ao comportamento de plantas em um cenário de mudanças climáticas. A grande maioria dos estudos realizados até a presente data buscou estudar os efeitos do aquecimento em espécies de climas temperados. Partindo do princípio que condições de altas temperaturas são condições normais em climas tropicais, poucos avanços ocorreram no entendimento dos efeitos da temperatura nestes locais (CAVALERI et al., 2015). Entretanto, com o avanço das mudanças climáticas, espera-se que o aquecimento nos trópicos ocorra na ordem 3 a 4°C, podendo chegar em 10°C em regiões como a Floresta Amazônica (IPCC, 2021). Hoje já sabemos que, considerando que a vegetação de climas tropicais, é altamente dependente das condições ambientais (ALEIXO et al., 2010; MARQUES et al., 2016; MYERS et al., 2000), estima-se que o aumento de 1°C na temperatura sazonal em zonas tropicais e subtropicais promova limitação de 16% no crescimento (LOBELL et al., 2008).

Existe um certo consenso na literatura que com o aquecimento, as plantas vão responder às novas condições através da adaptação e/ou migração para maiores altitudes e latitudes (MALHI et al., 2010). Entretanto, a capacidade de adaptação ocorre de forma gradual, ao passo que o aquecimento como consequência das mudanças climáticas ocorre de forma acelerada (BARNOSKY et al., 2011). Em 2007, o IPCC estimava que ocorreria um aumento de 1,5° até o ano de 2100 (tomando como referência o ano de 1990) (IPCC, 2007). Entretanto, o relatório publicado em 2021, mostra que existe mais de 50% de chance que o aumento de 1,5°C seja atingido ou ultrapassado entre 2021 e 2040. Se altas emissões de carbono continuarem a serem lançadas na atmosfera, até o final do século, as temperaturas poderão atingir de 3,3 a 5,7°C (IPCC, 2021).

A temperatura é apontada como um fator crítico para metabolismo vegetal, visto que a taxa de crescimento e a capacidade de sobrevivência podem sofrer grandes impactos mesmo com pequenas alterações (NIEVOLA et al., 2017). Apesar da sua importância, o conhecimento dos impactos do aumento de temperatura devido as mudanças climáticas sobre a vegetação de regiões tropicais, como é o caso da Floresta Atlântica, ainda é limitado (ALEIXO et al., 2010; ZUIDEMA et al., 2013). Compreender os mecanismos vegetais de tolerância às condições térmicas, pode contribuir para o desenvolvimento de estratégias de

manejo levando em consideração a capacidade de termotolerância dos vegetais (ORT et al., 2015) e a capacidade adaptativa já existente. Este entendimento auxiliará, principalmente a entender a fotossíntese e os fatores morfológicos e fisiológicos associados a capacidade fotossintética e ao balanço hídrico, fundamentais para a sobrevivência do indivíduo.

A investigação da capacidade de termotolerância em ambientes controlados, pode não relevar os reais efeitos ambientais e genéticos (ver, HICKLER et al., 2008). Isto porque, as plantas serão submetidas de forma repentina ao aumento de temperatura. Além disso, o aumento de temperatura devido as mudanças climáticas, está diretamente associado ao aumento da concentração de CO₂ (ABDELGAWAD et al., 2015) extremamente importante para o metabolismo vegetal (ver, ORT et al., 2015). Na tentativa de buscar condições naturais que retratem a variação de CO₂ e de temperatura, gradientes de altitude vêm ganhando cada vez mais atenção (ANGOSTO et al., 2009; KÖRNER et al., 2009; PENG; BLOOMFIELD; PRENTICE, 2020; WANG et al., 2017). Com o ganho de elevação, ocorre a diminuição da temperatura e da pressão parcial de CO₂ (GALE, 1972, 2004; KÖRNER, 2007). Partindo do princípio que em condições naturais as variações em características morfológicas ou fisiológicas resultem da existência de plasticidade fenotípica e/ou ocorrência de alelos adaptativos (PIGLIUCCI, 2001), os gradientes de altitude nos permitem avaliar o poder adaptativo das plantas em relação à temperatura e CO₂, assim como os demais fatores influenciados pela altitude.

A maioria dos estudos em gradientes altitudinais utilizam plantas naturalmente estabelecidas nesses ambientes. Esta abordagem pode impossibilitar a separação dos efeitos da plasticidade fenotípica, em relação a ocorrência de alelos adaptativos (BEREND; HAYNES; MACKENZIE, 2019). Então, a utilização de experimentos em jardim comum [projetos experimentais onde plantas de diferentes procedências são cultivadas nas mesmas condições] surgem como uma ferramenta poderosa para buscar entender o processo de adaptação (BEREND; HAYNES; MACKENZIE, 2019; BLANQUART et al., 2013). Ao associar experimentos de jardim comum, com as condições divergentes de regiões de altitude, podemos inferir como um determinado recurso e/ou condição irá atuar em indivíduos de uma mesma população e como diferentes populações irão responder a um mesmo fator (MIDOLO et al., 2019).

Mas, para isso é fundamental escolher uma espécie de grande distribuição. É esperado que espécies com ampla distribuição apresentem variações genéticas que permitam a esses indivíduos sobreviver em ambientes contrastantes. Por isso, estamos utilizando neste estudo a espécie *Myrsine coriacea* (Sw.) R. Br. ex Roem & Schult pertencente à família Primulaceae. A utilização desta espécie se deve à alta capacidade de colonização de espaço por indivíduos de *M. coriacea*, sendo uma espécie presente em praticamente todas as fitofisionomias e estratos altitudinais (CARRIJO et al., 2017; CARVALHO, 2003; SÁNCHEZ-TAPIA et al., 2018). Além disso, por se tratar de uma espécie dioica, espera-se que ocorra custos reprodutivos distintos entre indivíduos machos e fêmeas (JUVANY; MUNNÉ-BOSCH, 2015), e isso permite distinguir como os sexos lidam com a heterogeneidade ambiental (FIELD; PICKUP; BARRETT, 2013; HULTINE et al., 2016; LI et al., 2007), e como isso vai se refletir na sobrevivência da espécie em um cenário de mudanças climáticas.

Então, o objetivo deste trabalho foi avaliar como as variações ambientais em diferentes condições de altitude, interferem na capacidade fotossintética de *Myrsine coriacea* e, a partir disso, fazer inferências sobre os efeitos das mudanças climáticas em espécies arbóreas da Floresta Atlântica. Neste cenário, buscamos compreender como machos e fêmeas de *M. coriacea* em diferentes populações ao longo de um gradiente de altitude diferem em suas características morfológicas e estomáticas foliares (**Capítulo 1**). A partir daí, avaliamos a magnitude das variações em características funcionais de plantas provenientes de diferentes populações submetidas a duas condições de jardim comum, alta e baixa altitude (**Capítulo 2**).

2. OBJETIVO GERAL

Avaliar como as variações ambientais em diferentes condições de altitude, interferem na capacidade fotossintética da espécie dioica *Myrsine coriacea* na Floresta Atlântica.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar variações em características morfofisiológicas em plantas de *M. coriacea* ao longo de um gradiente de altitude de 2.151m.
- Compreender como as condições em gradientes de altitude estão afetando o balanço de carbono em plantas de *M. coriacea*
- Descrever como plantas fêmeas e machos respondem as variações ambientais em gradientes de altitude.
- Compreender se as variações em características morfofisiológicas em plantas de *M. coriacea*, se devem ao efeito ambiental ou se são fixados para a espécie.
- Identificar quais populações serão menos impactadas em um cenário futuro de mudanças climáticas.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1. A Floresta atlântica no cenário das Mudanças climáticas

A Convenção-Quadro das Nações Unidas para Mudança do Clima (UNFCCC) é um tratado ambiental internacional que visa estabilizar as concentrações de gases de efeito estufa na atmosfera resultantes das ações humanas. Segundo este tratado, as mudanças climáticas são as alterações do clima atribuídas direta ou indiretamente às atividades antropogênicas, as quais alteram a composição da atmosfera global e que são adicionais às variações climáticas naturais (UNFCCC, 1992). Ao longo de sua existência a terra já passou por diversos processos de resfriamentos e aquecimentos extremos, como episódios extremamente quentes (*hothouse episodes*) com ausência de gelo e níveis elevados dos oceanos, e episódios extremamente frios (*icehouse episodes*) com camadas de gelo glaciais e níveis de água relativamente baixo nos oceanos, como o que vivemos atualmente (CHAHINE et al., 2008; SAMES et al., 2016). Entretanto, desde de 1830 com aumento da emissão de gases de efeito estufa (GEE), como consequência da revolução industrial, onde a concentração de CO₂ passou de 280 ppm das épocas pré industriais e chegou a 415,68 ppm em novembro de 2021 (NOAA RESEARCH, 2022), a terra entrou em processo de aquecimento em decorrência das mudanças climáticas (ABRAM et al., 2016). A concentração desses gases na atmosfera impede que o calor seja irradiado, levando ao aumento de temperatura (CIAIS et al., 2013; IPCC, 2007).

Desde 1988, este processo vem sendo monitorado pelo painel intergovernamental sobre mudanças climáticas (IPCC). No relatório publicado em 2007, o IPCC apontou que nos próximos 100 anos (tomando como base o ano de 1990) a temperatura média global aumentaria entre 1,4°C (cenário otimista) a 5,8°C (cenário pessimista). E que em regiões tropicais este aumento seria em torno de 2 a 6°C (IPCC, 2007). Entretanto, o relatório publicado em 2021, mostrou que existe mais de 50% de chance que o aumento de 1,5°C seja atingido ou ultrapassado entre 2021 e 2040. Podendo o aquecimento até o final do século atingir de 3,3 a 5,7°C acima dos níveis pré-industriais (IPCC, 2021).

O aumento de temperatura pode trazer graves consequências para todo o mundo. Na América do Sul, temperaturas mais altas e maior duração da estação

seca, poderão intensificar os episódios causados pelo El Niño/Oscilação Sul (ENSO) aumentando ainda mais a frequência de estiagens sazonais rigorosas, além de intensificar os episódios de anomalias na temperatura da superfície do Atlântico (MARENGO et al., 2009). Isso irá contribuir para incêndios cada vez mais frequentes e intensos, os quais ameaçarão principalmente a distribuição das espécies vegetais e a integridade ambiental dos biomas, em particular os predominantemente florestais, como é o caso da Floresta Atlântica (ALEIXO et al., 2010; GOTTFRIED et al., 2012).

A Floresta Atlântica é um mosaico de fitofisionomias vegetais. Ela é composta por diversas formações florestais como, floresta ombrófila densa, ombrófila mista, estacional semidecidual, estacional decidual, ombrófila aberta, campos de altitude, restingas e manguezais (Ver, MARQUES; GRELE, 2021). Está distribuído ao longo de 24 graus de latitude, do estado do Rio Grande do Norte até o Rio Grande do Sul e pode chegar até aproximadamente 2.900 m de altitude (ALEIXO et al., 2010; COLOMBO; JOLY, 2011; NEVES et al., 2017; RODRIGUES, 2009; TABARELLI et al., 2005). É considerada uma das regiões com maior biodiversidade do planeta, ao mesmo tempo que apresenta grande devastação devido as atividades antrópicas, apresentando apenas 28% (32 milhões de hectares) da área originalmente ocupada (REZENDE et al., 2018). A alta biodiversidade associada a grande devastação, fez com que Floresta Atlântica entrasse para a lista dos 35 *Hotspots* de biodiversidade, que são conjuntos de ecorregiões prioritárias para conservação em nível mundial (BELLARD et al., 2014; MYERS et al., 2000). Cerca de 1.544 espécies vegetais da Floresta Atlântica estão ameaçadas de extinção, o que corresponde a 60% de toda a lista de espécies ameaçadas da flora brasileira (MARQUES et al., 2016; MARTINELLI; MORAIS, 2013).

A diversidade florística e a distribuição das espécies arbóreas na Floresta Atlântica estão diretamente correlacionadas com características climáticas, como a temperatura e a precipitação (ALEIXO et al., 2010; MARQUES et al., 2016; MYERS et al., 2000). Por isso, é considerada um dos três pontos mais críticos de ameaça e vulnerabilidade da biodiversidade às mudanças climáticas (BELLARD et al., 2014; MITTERMEIER et al., 2005). Então, além das alterações devido as atividades antrópicas que estão ocorrendo ao longo dos anos, as mudanças climáticas em

curso e previstas constituem um segundo fator de ameaça à biodiversidade (ALEIXO et al., 2010).

Embora ainda sejam escassos os estudos ecológicos abordando os impactos reais das mudanças climáticas para a Floresta Atlântica (ALEIXO et al., 2010; COLOMBO; JOLY, 2011; DA SILVA; HIGUCHI; DA SILVA, 2018; INAGUE; ZWIENER; MARQUES, 2021; REZENDE et al., 2018; VALE; ALVES; LORINI, 2009), a maioria dos trabalhos abordando espécies, assim como fitofisionomias, apontam a vulnerabilidade desta vegetação tanto em um cenário otimista, quanto pessimista. A nível de espécies, DA SILVA et al. (2018) apontou que, em um cenário otimista, ocorrerá uma redução de 65,8% da área climática ideal para o cultivo de *Ilex paraguariensis* A.ST. Hil. Já em um cenário pessimista, a redução será de 82,1%. Outro estudo realizado com 38 espécies arbóreas típicas da Floresta Atlântica, constatou que também haverá redução de 30% da área hoje ocupada em um cenário otimista. Para o cenário pessimista, esta redução poderá atingir 65% (COLOMBO; JOLY, 2011). Por outro lado, através de estudos de modelagem com todas as espécies da Floresta Atlântica listadas no Species Link Network, foi previsto que entre as espécies que apresentam 25% de ocorrência na Floresta Atlântica, cerca de 17% a 23% podem ganhar 10% ou mais de expansão de habitat (LEÃO et al., 2021).

Ao observar a vulnerabilidade das fitofisionomias, a perda potencial de ambiente na floresta estacional semidecidual é de 50,4% (ESSER; NEVES; JARENKOW, 2019). Para a restinga, a perda de espécies pode atingir percentuais próximos a 19% levando ao desaparecimento de cerca de 134 espécies. Por exemplo, *Unonopsis aurantiaca* Mass & Westra que é uma espécie endêmica do Espírito Santo (INAGUE; ZWIENER; MARQUES, 2021). Já para os campos de altitude a redução prevista é de 5,2% (ESSER; NEVES; JARENKOW, 2019), mas, mesmo com uma perda potencial menor em comparação as demais fitofisionomias, a vegetação em campos de altitude será altamente impactada devido à distribuição restrita da vegetação. Essa distribuição restrita pode influenciar negativamente as respostas ao aumento de temperatura, que espera-se um aumento médio anual entre 1,8° e 2,6°C em altitudes acima de 1.800 m no sudeste brasileiro até o ano de 2050 (ASSIS; DE MATTOS, 2016).

4.2. Mudanças climáticas e o metabolismo de carbono

Em um cenário de mudanças climáticas, o aumento de CO₂ poderá afetar o metabolismo das plantas tanto em função da disponibilidade de substrato para a fotossíntese, que é o ponto de entrada do carbono na biosfera, quanto por provocar o aumento de temperatura. O aumento de temperatura por sua vez, mesmo derivado do aumento da concentração de CO₂, poderá anular os efeitos benéficos do aumento de CO₂ (ver, ORT et al., 2015). Concentrações mais altas de CO₂ estimulam a fotossíntese líquida aumentando a disponibilidade de substrato de CO₂ para Rubisco e simultaneamente suprimindo a fotorrespiração (AINSWORTH; ROGERS, 2007; DRAKE, 2014; HETHERINGTON; WOODWARD, 2003). A longo prazo, devido à grande disponibilidade de substrato, pode ocorrer uma redução de 11% na densidade estomática, acompanhada pela redução na condutância estomática, mas, mantendo altas taxas fotossintéticas (HETHERINGTON; WOODWARD, 2003). No entanto, em altas concentrações de carbono interno (C_i), a fotossíntese poderá ser limitada mesmo com o aumento da disponibilidade de carbono, devido a capacidade de regeneração da RuBP e de utilização das trioses fosfatos para produção de amido e sacarose (SHARKEY et al., 1986). Com isso, o aumento do CO₂ possivelmente terá maiores efeitos em plantas em condições de baixo C_i, por exemplo, quando a condutância estomática é baixa e a difusão de CO₂ na folha é restrita (AINSWORTH; ROGERS, 2007).

Por outro lado, o aumento de temperatura estimula a respiração e a fotorrespiração (CROUS; UDDLING; DE KAUWE, 2022; DUSENGE; DUARTE; WAY, 2019; HESKEL et al., 2014; HOFSTRA; HESKETH, 1969). A taxa de fotorrespiração em temperaturas mais altas aumenta mais rapidamente do que a taxa de fotossíntese (DUSENGE; DUARTE; WAY, 2019; LONG, 1991). Isso pode ocorrer por duas razões: *i*) a especificidade da Rubisco para o CO₂ que diminui em temperaturas mais altas em relação ao O₂, aumentando as chances de ocorrência de uma reação de oxigenação (KU; EDWARDS, 1977b); e *ii*) a solubilidade do O₂ que diminui menos rapidamente do que a do CO₂ com o aumento da temperatura (KU; EDWARDS, 1977a), com isso, existe relativamente mais O₂ disponível em condições de maiores temperaturas. Além disso, limitações na absorção líquida de carbono devido as altas temperaturas podem ocorrer mesmo quando a Rubisco estiver atuando como carboxilase. Pois, a Rubisco ativase que

é essencial para a ativação e manutenção da atividade catalítica da Rubisco é relativamente instável ao calor, portanto, espera-se que a capacidade da Rubisco ativasse de manter o estado de ativação da Rubisco diminua em altas temperaturas (HU; DING; ZHU, 2020; MOORE et al., 2021; SAGE; KUBIEN, 2007; SALVUCCI; CRAFTS-BRANDNER, 2004).

Por serem fatores que estão ocorrendo simultaneamente (aumento de CO₂ e de temperatura), o efeito líquido da mudança global na dinâmica do carbono dependerá das respostas simultâneas a estes dois fatores. Espera-se que em plantas situadas nos trópicos, o efeito para a supressão da fotorrespiração pelo aumento de CO₂ sobreponha os efeitos da temperatura quando comparado a plantas de clima frio (BAIG et al., 2015; HICKLER et al., 2008). E em alguns casos, este efeito pode gerar um aumento de 12 a 55% na fotossíntese bruta (WALKER et al., 2016). Em regiões secas, a elevação da concentração de CO₂, gerou uma redução da g_s e esteve diretamente relacionado ao aumento da eficiência do uso da água (WUE) (DRAKE et al., 2017; HETHERINGTON; WOODWARD, 2003). Já a capacidade de acumular carbono sob alto CO₂ em uma floresta temperada, foi limitada pela baixa disponibilidade de água e nutrientes no solo (OREN et al., 2001). Portanto, o efeito líquido da mudança global na dinâmica do carbono dependerá, da capacidade de respostas das plantas às mudanças simultâneas de CO₂ e temperatura e as condições ambientais (MARENGO et al., 2009).

4.3. Investigações ecofisiológicas: Experimento em gradientes de altitude Vs. Jardins comuns

Com o advento das mudanças climáticas promovendo o aquecimento global, várias espécies iriam migrar para maiores latitudes e/ou altitudes em busca de temperaturas mais próximas da sua condição natural (MALHI et al., 2010). Entretanto, a rapidez em que as mudanças relacionadas com o aquecimento global estão ocorrendo, dificultam os processos evolutivos e adaptativos (BARNOSKY et al., 2011). Então, espera-se que a sobrevivência, crescimento e desenvolvimento das plantas sejam determinados pelas possíveis estratégias adaptativas de *aclimatação* (plasticidade fenotípica), permitindo a permanência nos locais de ocupação atuais e/ou *adaptação local*, a partir de modificação genética intraespecífica proporcionada pela frequência alélica e causada pela pressão

seletiva das variações ambientais (SIQUEIRA, 2010). Consequentemente, espera-se que a microevolução por meio de seleção natural já existente seja crucial para que as espécies possam permanecer em suas atuais faixas de distribuição (GONZALO-TURPIN; HAZARD, 2009; GRATANI, 2014).

Desde as explorações de Von Humboldt e Bonpland entre 1799-1804 (ver, MORET et al., 2019; VON HUMBOLDT; BONPLAND, 2009), já era notada a importância dos gradientes de altitude em regiões tropicais para a biodiversidade, e a relação da distribuição das espécies em função de fatores climáticos e edáficos. Sabe-se que a altitude exerce naturalmente forte influência sobre fatores diretamente impactados pelas mudanças climáticas, como: radiação UV-B, precipitação, temperatura e concentração de CO₂ (KÖRNER, 2007). A capacidade de sobrevivência dos organismos de uma mesma espécie ao longo de gradientes altitudinais ocorre em função da plasticidade fenotípica e/ou ocorrência de alelos adaptativos, impulsionada pela filtragem climática (PIGLIUCCI, 2001). Por isso, diversos estudos principalmente em climas temperados já utilizam gradientes de altitude e espécies naturalmente localizadas nestes ambientes na intenção de prever respostas às variações climáticas em detrimento das mudanças climáticas (AHMAD et al., 2016; ANDERSON; GEZON, 2015; FIELD; PICKUP; BARRETT, 2013; FRIEND; WOODWARD, 1990; KÖRNER, 2007; KÖRNER et al., 2009; MCVICAR; KÖRNER, 2013).

Entretanto, gradientes ambientais podem apresentar subpopulações potencialmente isoladas em *ilhas de habitat*. Principalmente em extremos altitudinais, devido à deriva genética causada por limitações no fluxo gênico, o tamanho da população e os efeitos fundadores (KÖRNER, 2021). Então, a redução da variação genética levará ao aumento da diferenciação entre as populações. Por outro lado, uma maior variação genética mantida em populações situadas em altitudes medianas, permitem uma maior capacidade de respostas nessas populações (GONZALO-TURPIN; HAZARD, 2009; KÖRNER, 2021; OHSAWA et al., 2007; OHSAWA; IDE, 2008). Então, ao comparar indivíduos ao longo de gradientes ambientais, podem ocorrer limitações que distinguem a capacidade de aclimação devido a plasticidade fenotípica e a existência de alelos adaptativos (BEREND; HAYNES; MACKENZIE, 2019).

Por isso, experimentos em jardim comum [projetos experimentais onde organismos de diferentes procedências são cultivados juntos nas mesmas

condições] vêm ganhando visibilidade por permitir estudar a interação entre genes e ambiente (BEREND; HAYNES; MACKENZIE, 2019; BLANQUART et al., 2013; VITASSE et al., 2014). Os primeiros experimentos de jardim comum envolvendo espécies de altitude foram conduzidos na Europa em meados do século 19, ocorrendo com a movimentação de plantas de baixa para maiores altitudes (ver, BEREND; HAYNES; MACKENZIE, 2019). Este tipo de experimento permite identificar a existência da plasticidade fenotípica, adaptação local e o potencial adaptativo (FREI et al., 2012; KÖRNER et al., 2016; MCDONOUGH MACKENZIE; PRIMACK; MILLER-RUSHING, 2018).

Estes estudos ainda são pouco explorados, principalmente para espécies arbóreas e regiões de clima tropical. Geralmente os estudos se concentram em espécies herbáceas em clima temperado (ALEXANDER; DIEZ; LEVINE, 2015; BEREND; HAYNES; MACKENZIE, 2019; BLANQUART et al., 2013; DE FRENNE et al., 2013; OHSAWA; IDE, 2008; PRATT; MOONEY, 2013; SUN et al., 2016).

4.4. Como o aumento de altitude interfere na fisiologia das plantas

A altitude exerce forte influência sobre diferentes fatores como intensidade e frequência de radiação solar, temperatura, pressão atmosférica, nutrição do solo e precipitação. Entretanto, o efeito da altitude é mais relevante sobre a temperatura e a pressão atmosférica. Gradientes de altitude apresentam naturalmente diferentes sítios de temperatura, ocorrendo a diminuição média de 0,55°C a cada 100 m (OZENDA; BOREL, 1991). Já para a pressão atmosférica, ocorre uma redução de 21% a 2.000 m (GALE, 1972, 2004). Já para fatores como incidência de radiação solar, velocidade dos ventos e formação de neblina ocorre um aumento (CHEN et al., 2015; KÖRNER, 2007; MCVICAR; KÖRNER, 2013; OZENDA; BOREL, 1991). Essas condições afetam o crescimento e desenvolvimento vegetal além dos processos fisiológicos como a fotossíntese e a respiração (ANGOSTO et al., 2009; HALBRITTER et al., 2018; LARCHER; KAINMÜLLER; WAGNER, 2010).

Com o aumento da altitude e diminuição da temperatura, plantas de altitude apresentam um aumento na assimilação líquida de carbono (A) em relação as plantas em menores altitude, devido a diminuição na taxa de fotorrespiração (TERASHIMA et al., 1995; WU et al., 2021). Mas, ao mesmo tempo ocorre a intensificação do processo transpiratório, em função l) da diminuição da pressão

parcial de CO₂, que irá exigir maiores valores de condutância estomática para manutenção das taxas fotossintéticas (KÖRNER, 2007; LEUSCHNER, 2000), e o *ii*) aumento da radiação solar, que irá ocasionar superaquecimento das folhas (BRESSON et al., 2011; BRUIJNZEEL; VENEKLAAS, 1998). Por isso, plantas em condições de altitude tendem a apresentar diversas características que vão limitar a perda de água. Alguns fatores irão atuar dificultando a perda de água para o ambiente em detrimento de aumentar a absorção de CO₂, como por exemplo, a diminuição do tamanho estomático, que irá proporcionar um caminho de difusão mais curto devido a profundidade do poro (VIALET-CHABRAND; LAWSON, 2019) aumentando a velocidade de difusão de CO₂ (DASZKOWSKA-GOLEC; SZAREJKO, 2013; RAVEN; HANDLEY; ANDREWS, 2004), e o aumento de tricomas, para aumentar da resistência da camada limítrofe (GALDON-ARMERO et al., 2018; GALMÉS et al., 2007a; SMITH et al., 2009).

O aumento da camada de tricomas também poderá atuar na proteção das folhas contra o excesso de radiação UV e prevenir o superaquecimento (GALDON-ARMERO et al., 2018; GALMÉS et al., 2007b; SMITH et al., 2009), assim como os mecanismos foliares de diminuição no tamanho e número de folhas (MIDOLO et al., 2019; POORTER et al., 2009). Já a diminuição da área foliar específica (SLA) também muito comum em regiões de altitude, pode estar associada tanto a proteção dos pigmentos fotossintéticos dos efeitos nocivos dos raios UV-B (BARIGAH et al., 2011; POORTER; et al., 2009; SIMPSON; RICHARDSON; LAUGHLIN, 2016), quanto ser um mecanismo de proteção das células mesofilicas as baixas temperaturas (FRIEND; WOODWARD, 1990).

4.5. Os efeitos da dioicia em espécies vegetais

A dioicia é um termo utilizado para designar plantas onde os sexos (macho e fêmea) estão separados em diferentes indivíduos. Enquanto plantas fêmeas apresentam flores pistiladas, os machos apresentam flores estaminadas (RENNER; RICKLEFS, 1995). Este tipo de separação sexual ocorre em 157 famílias de angiospermas (BARRETT; JOSH, 2013; MUNNÉ-BOSCH, 2015), podendo ser encontrada em plantas lenhosas (LIEBIG et al., 2001) e herbáceas (ALVAREZ-CANSINO et al., 2012). Existem relatos que este sistema surgiu durante a evolução das plantas com flores (BARRETT; JOSH, 2013). Outros autores

apontam o surgimento da dioícia como uma condição derivada do hermafroditismo - cujo termo é designado para plantas da qual os sexos (macho e fêmea) estão presentes na mesma flor - para evitar a endogamia e aperfeiçoar a alocação de recursos entre os sexos, na intenção de alcançar vantagens reprodutivas (ver, BARRETT; JOSH, 2013; GEBER; DAWSON; DELPH, 1999). Porém, existe uma vertente que investiga que a evolução dos sistemas sexuais de angiospermas está associada aos aspectos geográficos, mecanismos genéticos, e contexto ecológico, podendo ou não corresponder ao hermafroditismo (RENNER, 2014).

Fato é que, a expressão do dimorfismo sexual secundário (em características não reprodutivas) têm demonstrado ser um comportamento específico das espécies e não apenas ligada a separação sexual, estando relacionada tanto ao histórico de vida, quanto a capacidade de adaptações as variações ambientais (JUVANY; MUNNÉ-BOSCH, 2015).

Expressar o dimorfismo em características secundárias, pode garantir a diminuição da competição intraespecífica por recursos, permitindo a coexistência de machos e fêmeas no mesmo ambiente (LI et al., 2007; JUVANY; MUNNÉ-BOSCH, 2015; HULTINE et al., 2016; WU et al., 2021a). Por possuírem diferenças nos custos de reprodução, fêmeas tendem um maior investimento para a obtenção de carbono para a formação dos frutos e sementes (OBESO; RETUERTO, 2002; WU et al., 2021a), ao contrário dos machos, que possuem um baixo custo reprodutivo para a produção de pólen. Devido a essa diferença, fêmeas são consideradas mais susceptíveis aos efeitos negativos de estresses (OBESO; RETUERTO, 2002; SÁNCHEZ-VILAS; RETUERTO, 2009; SIMANCAS et al., 2016; VILAS; RETUERTO, 2017). Geralmente as fêmeas, quando comparadas aos machos, apresentam menor tolerância ao estresse oxidativo e maior susceptibilidade à fotoinibição (SIMANCAS et al., 2016). Mas, ao mesmo tempo, existe um maior investimento em mecanismos para maximizar o ganho de carbono, para suprir a formação de frutos e sementes (OBESO; RETUERTO, 2002; WU et al., 2021b).

4.6. *Myrsine coriacea* (Sw.) R. Br. ex Roem & Schult

Myrsine coriacea (Sw.) R. Br. ex Roem & Schult também conhecida pelo sinônimo *Rapanea ferruginea* (Ruiz & Pav. Mez) é popularmente conhecida como

Capororoca que significa “árvores de ramos frágeis”. Trata-se de uma espécie dioica nativa da Floresta Atlântica pertencente à família Primulacea, e possui ocorrência pantropical (América Central até o Uruguai) (OTEGUI, 1998). No Brasil, ocorre do Cerrado e Floresta Atlântica (FREITAS; KINOSHITA, 2015). Dentro da Floresta Atlântica, indivíduos da espécie podem ser encontrados em diversas formações florestais, como: campos de altitude, afloramentos rochosos, ecossistemas costeiros e bordas florestais (CARRIJO et al., 2017; SÁNCHEZ-TAPIA et al., 2018). Sendo uma das poucas espécies que conseguem colonizar áreas de restinga e campos de altitude (CARVALHO, 2003).

Seus indivíduos são arbustivo-arbóreo de 4 a 10m de altura, com ramos terminais pilosos e ramificados, visivelmente revestidos por tricomas ferrugíneos (FREITAS; CARRIJO, 2008; FREITAS; KINOSHITA, 2015). Além disso, é uma espécie com ampla utilização em projetos de restauração ecológica dada sua capacidade de atração da avifauna e caráter pioneiro de ocupação do espaço (JESUS; ARAUJO, 2007; PASCOTTO, 2007).

5. REFERÊNCIAS

- ABDELGAWAD, Hamada *et al.* Elevated CO₂ mitigates drought and temperature-induced oxidative stress differently in grasses and legumes. *Plant Science*, v. 231, n. 2014, p. 1–10, 2015.
- ABRAM, Nerilie J. *et al.* Early onset of industrial-era warming across the oceans and continents. *Nature*, v. 536, n. 7617, p. 411–418, 2016.
- AHMAD, Khawaja Shafique *et al.* Morpho-anatomical and physiological adaptations to high altitude in some Aveneae grasses from Neelum Valley, Western Himalayan Kashmir. *Acta Physiologiae Plantarum*, v. 38, n. 4, 2016.
- AINSWORTH, Elizabeth A.; ROGERS, Alistair. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: Mechanisms and environmental interactions. *Plant, Cell and Environment*, v. 30, n. 3, p. 258–270, 2007.
- ALEIXO, Alexandre *et al.* Mudanças Climáticas e a Biodiversidade dos Biomas Brasileiros: Passado, Presente e Futuro. *Natureza e Conservação*, v. 8, n. 2, p. 194–196, 2010.
- ALEXANDER, Jake M.; DIEZ, Jeffrey M.; LEVINE, Jonathan M. Novel competitors shape species' responses to climate change. *Nature*, v. 525, n. 7570, p. 515–518, 2015.
- ALVAREZ-CANSINO, Leonor *et al.* Gender-specific variation in physiology in the dioecious shrub *Corema album* throughout its distributional range. *Functional Plant Biology*, v. 39, n. 12, p. 968–978, 2012.
- ANDERSON, Jill T.; GEZON, Zachariah J. Plasticity in functional traits in the context of climate change: a case study of the subalpine forb *Boechera stricta* (Brassicaceae). *Global Change Biology*, v. 21, n. 4, p. 1689–1703, 2015.
- ANGOSTO, Trinidad *et al.* Evidence of altitudinal increase in photosynthetic capacity: Gas exchange measurements at ambient and constant CO₂ partial pressures. *Frontiers in Plant Science*, v. 87, n. 3, p. 505–514, 2009.
- ASSIS, Mayara Vescovi; DE MATTOS, Eduardo Arcoverde. Vulnerabilidade da vegetação de campos de altitude às mudanças climáticas. *Oecologia Australis*, v. 20, n. 2, p. 24–36, 2016.
- BAIG, Sofia *et al.* Does the growth response of woody plants to elevated CO₂ increase with temperature? A model-oriented meta-analysis. *Global Change Biology*, v. 21, n. 12, p. 4303–4319, 2015.
- BARIGAH, Tête. S. *et al.* Irradiance-induced plasticity in the hydraulic properties of saplings of different temperate broad-leaved forest tree species. *Tree Physiology*, v. 26, n. 12, p. 1505–1516, 2011.
- BARNOSKY, Anthony D. *et al.* Has the Earth's sixth mass extinction already

arrived? *Nature*, v. 471, n. 7336, p. 51–57, 2011.

BARRETT, Spencer C.H.; JOSH, Hough. Sexual dimorphism in flowering plants. *Journal of Experimental Botany*, v. 64, n. 1, p. 67–82, 2013.

BELLARD, Céline *et al.* Vulnerability of biodiversity hotspots to global change. *Global Ecology and Biogeography*, v. 23, n. 12, p. 1376–1386, 2014.

BEREND, Kevin; HAYNES, Kristen; MACKENZIE, Caitlin Mc Donough. Common garden experiments as a dynamic tool for ecological studies of alpine plants and communities in northeastern north america. *Rhodora*, v. 121, n. 987, p. 174–212, 2019.

BLANQUART, François *et al.* A practical guide to measuring local adaptation. *Ecology Letters*, v. 16, n. 9, p. 1195–1205, 2013.

BRESSON, Caroline C. *et al.* To what extent is altitudinal variation of functional traits driven by genetic adaptation in European oak and beech? *Tree Physiology*, v. 31, n. 11, p. 1164–1174, 2011.

BRUIJNZEEL, L. A.; VENEKLAAS, E. J. Climatic conditions and tropical montane forest productivity: The fog has not lifted yet. *Ecology*, v. 79, n. 1, p. 3–9, 1998.

CARRIJO, Tatiana T. *et al.* Flora do Espírito santo: Primulaceae. *Rodriguesia*, v. 68, n. 5, p. 1829–1856, 2017.

CARVALHO, P. E. R. *Espécies arbóreas brasileiras*. Brasília: Embrapa, 2003.

CAVALERI, Molly A. *et al.* Urgent need for warming experiments in tropical forests. *Global Change Biology*, v. 21, n. 6, p. 2111–2121, 2015.

CHAHINE, M. T. *et al.* Satellite remote sounding of mid-tropospheric CO₂. *Geophysical Research Letters*, v. 35, n. 17, p. 1–5, 2008.

CHEN, Menghua *et al.* Effects of enhanced UV-B radiation on morphology, physiology, biomass, leaf anatomy and ultrastructure in male and female mulberry (*Morus alba*) saplings. *Environmental and Experimental Botany*, v. 129, p. 85–93, 2015.

CIAIS, Philippe *et al.* Carbon and Other Biogeochemical Cycles. In: STOCKER, T. F., QIN, D., PLATTNER, G.-K.; TIGNOR, M., ALLEN, S. K., BOSCHUNG, J., NAUELS, A., XIA, Y., BEX, V., AND MIDGLEY, P. M. (Org.). *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. IPCC ed. New York: IPCC, p. 465–570, 2013.

COLOMBO, AF.; JOLY, CA. Brazilian Atlantic Forest lato sensu: the most ancient Brazilian forest, and a biodiversity hotspot, is highly threatened by climate change. *Brazilian Journal of Biology*, v. 70, n. 3 suppl, p. 697–708, 2011.

CROUS, Kristine Y.; UDDLING, Johan; DE KAUWE, Martin G. Temperature

responses of photosynthesis and respiration in evergreen trees from boreal to tropical latitudes. *New Phytologist*, 10.111/nph.17951, 2022.

DA SILVA, Mariéle Alves Ferrer; HIGUCHI, Pedro; DA SILVA, Ana Carolina. Impact of climate change on the potential geographical distribution of *Ilex paraguariensis*. *Rodriguesia*, v. 69, n. 4, p. 2069–2079, 2018.

DASZKOWSKA-GOLEC, Agata; SZAREJKO, Iwona. Open or close the gate - Stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, v. 4, n. MAY, p. 1–17, 2013.

DE FRENNE, Pieter *et al.* Latitudinal gradients as natural laboratories to infer species' responses to temperature. *Journal of Ecology*, v. 101, n. 3, p. 784–795, 2013.

DRAKE, Bert G. Rising sea level, temperature, and precipitation impact plant and ecosystem responses to elevated CO₂ on a Chesapeake Bay wetland: Review of a 28-year study. *Global Change Biology*, v. 20, n. 11, p. 3329–3343, 2014.

DRAKE, Brandon L *et al.* The carbon fertilization effect over a century of anthropogenic CO₂ emissions: higher intracellular CO₂ and more drought resistance among invasive and native grass species contrasts with increased water use efficiency for woody plants in the US Southwest. *Global Change Biology*, v. 23, n. 2, p. 782–792, 2017.

DUSENGE, Mirindi Eric; DUARTE, André Galvao; WAY, Danielle A. Plant carbon metabolism and climate change: elevated CO₂ and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration. *New Phytologist*, v. 221, n. 1, p. 32–49, 2019.

ESSER, Luíz Fernando; NEVES, Danilo M.; JARENKOW, João André. Habitat-specific impacts of climate change in the Mata Atlântica biodiversity hotspot. *Diversity and Distributions*, v. 25, n. 12, p. 1846–1856, 2019.

FIELD, David L; PICKUP, Melinda; BARRETT, Spencer C H. Ecological context and metapopulation dynamics affect sex-ratio variation among dioecious plant populations. p. 917–923, 2013.

FREI, Eva S. *et al.* Phenotypic differentiation in a common garden reflects the phylogeography of a widespread Alpine plant. *Journal of Ecology*, v. 100, n. 2, p. 297–308, 2012.

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. *Rodriguesia*, v. 59(4), p. 813–828, 2008.

FREITAS, Maria De Fátima; KINOSHITA, Luiza Sumiko. Myrsine (Myrsinoideae-Primulaceae) no sudeste e sul do Brasil. *Rodriguesia*, v. 66, n. 1, p. 167–189, 2015.

FRIEND, A. D.; WOODWARD, F. I. Evolutionary and Ecophysiological Responses

of Mountain Plants to the Growing Season Environment. *Advances in Ecological Research*, v. 20, n. C, p. 59–124, 1990.

GALDON-ARMERO, Javier *et al.* The ratio of trichomes to stomata is associated with water use efficiency in *Solanum lycopersicum* (tomato). *The Plant Journal*, v. 96, n. 3, p. 607–619, 2018.

GALE, J. Availability of Carbon Dioxide for Photosynthesis at High Altitudes: Theoretical Considerations. *Ecology*, v. 53, n. 3, p. 494–497, 1972.

GALE, J. Plants and altitude - Revisited. *Annals of Botany*, v. 94, n. 2, p. 199, 2004.

GALMÉS, Jeroni *et al.* Photoprotection processes under water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits. *Physiologia Plantarum*, v. 130, n. 4, p. 495–510, 2007a.

GALMÉS, Jeroni *et al.* Water relations and stomatal characteristics of Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits: Responses to water stress and recovery. *Plant and Soil*, v. 290, n. 1–2, p. 139–155, 2007b.

GEBER, M. A; DAWSON, T. E.; DELPH, L.F. Geber MA, Dawson TE, Delph L. (1999) Gender and Sexual Dimorphism in Flowering Plantas, Berlin Heidelberg: Springer-V, 1999.

GONZALO-TURPIN, Héloïse; HAZARD, Laurent. Local adaptation occurs along altitudinal gradient despite the existence of gene flow in the alpine plant species *Festuca eskia*. *Journal of Ecology*, v. 97, n. 4, p. 742–751, 2009.

GOTTFRIED, Michael *et al.* Continent-wide response of mountain vegetation to climate change. *Nature Climate Change*, v. 2, n. 2, p. 111–115, 2012.

GRATANI, Loretta. Plant Phenotypic Plasticity in Response to Environmental Factors. *Advances in Botany*, v. 2014, p. 1–17, 2014.

HALBRITTER, Aud H. *et al.* Trait differentiation and adaptation of plants along elevation gradients. *Journal of Evolutionary Biology*, v. 31, n. 6, p. 784–800, 2018.

HESKEL, Mary A. *et al.* Thermal acclimation of shoot respiration in an Arctic woody plant species subjected to 22 years of warming and altered nutrient supply. *Global Change Biology*, v. 20, n. 8, p. 2618–2630, 2014.

HETHERINGTON, Alistair M.; WOODWARD, F. Ian. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*, v. 424, n. August, p. 901–908, 2003.

HICKLER, Thomas *et al.* CO₂ fertilization in temperate FACE experiments not representative of boreal and tropical forests. *Global Change Biology*, v. 14, n. 7, p. 1531–1542, 2008.

HOFSTRA, G.; HESKETH, J. D. Effects of temperature on the gas exchange of leaves in the light and dark. *Planta*, v. 85, n. 3, p. 228–237, 1969.

HU, Shanshan; DING, Yanfei; ZHU, Cheng. Sensitivity and Responses of Chloroplasts to Heat Stress in Plants. *Frontiers in Plant Science*, v. 11, n. April, p. 1–11, 2020.

HULTINE, Kevin R *et al.* Climate change perils for dioecious plant species. *Nature Plants*, v. 2, n. 8, p. 1–8, 2016.

INAGUE, Gabriel M.; ZWIENER, Victor P.; MARQUES, Márcia C.M. Climate change threatens the woody plant taxonomic and functional diversities of the Restinga vegetation in Brazil. *Perspectives in Ecology and Conservation*, v. 19, n. 1, p. 53–60, 2021.

IPCC. *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2007.

IPCC. *Climate Change 2021: The Physical Science Basis*. Cambridge UK: Cambridge University Press, 2021.

JESUS, Shayana De; ARAUJO, Leite De. Frugivoria por aves em *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) e *Myrsine coriacea* (Myrsinaceae). *Revista Brasileira de Ornitologia*, v. 15, n. 4, p. 585–591, 2007.

JUVANY, Marta; MUNNÉ-BOSCH, Sergi. Sex-related differences in stress tolerance in dioecious plants: A critical appraisal in a physiological context. *Journal of Experimental Botany*, v. 66, n. 20, p. 6083–6092, 2015.

KÖRNER, Christian *et al.* Mountain vegetation under environmental change. *Global Change and Sustainable Development in Mountain Regions. Proceedings of the COST Strategic Workshop April 7-9, 2008, Congress Innsbruck*, v. 7, p. 25–30, 2009.

KÖRNER, Christian. The use of “altitude” in ecological research. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 22, n. 11, p. 569–574, 2007.

KÖRNER, Christian. Treelines alpinas. *Alpine Plant Life*. Berlin Heidelberg: Springer, 2021.

KÖRNER, Christian *et al.* Where, why and how? Explaining the low-temperature range limits of temperate tree species. *Journal of Ecology*, v. 104, n. 4, p. 1076–1088, 2016.

KU, Sun-Ben; EDWARDS, Gerald E. Oxygen Inhibition of Photosynthesis- II. Kinetic characteristics as affected by temperature. *Plant Physiology*, v. 59, n. 5, p. 991–999, 1977a.

KU, Sun-Ben; EDWARDS, Gerald E. Oxygen Inhibition of Photosynthesis - I. Temperature dependence and relation to O₂/CO₂ solubility ratio. *Plant Physiology*, v. 59, n. 5, p. 991–999, 1977b.

LARCHER, Walter; KAINMÜLLER, Christine; WAGNER, Johanna. Survival types of high mountain plants under extreme temperatures. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, v. 205, n. 1, p. 3–18, 2010.

LEÃO, Tarciso C.C. *et al.* Projected impacts of climate and land use changes on the habitat of Atlantic Forest plants in Brazil. *Global Ecology and Biogeography*, v. 30, n. 10, p. 2016–2028, 2021.

LEUSCHNER, Christoph. Are high elevations in tropical mountains arid environments for plants? *Ecology*, v. 81, n. 5, p. 1425–1436, 2000.

LI, Chunyang *et al.* Sex-related differences in leaf morphological and physiological responses in *Hippophae rhamnoides* along an altitudinal gradient. *Tree Physiology*, v. 27, n. 3, p. 399–406, 2007.

LIEBIG, Markus *et al.* Ecophysiological and floristic implications of sex expression in the dioecious neotropical CAM tree *Clusia hilariana* Schtdl. *Trees - Structure and Function*, v. 15, n. 5, p. 278–288, 2001.

LOBELL, David B. *et al.* Prioritizing climate change adaptation needs for food security in 2030. *Science*, v. 319, n. 5863, p. 607–610, 2008.

LONG, S. P. Modification of the response of photosynthetic productivity to rising temperature by atmospheric CO₂ concentrations: Has its importance been underestimated? *Plant, Cell & Environment*, v. 14, n. 8, p. 729–739, 1991.

MALHI, Yadvinder *et al.* Introduction: Elevation gradients in the tropics: Laboratories for ecosystem ecology and global change research. *Global Change Biology*, v. 16, n. 12, p. 3171–3175, 2010.

MARENGO, J *et al.* Global warming and climate change in Amazonia. In: KELLER, M. ET AL. (Org.). *Amazonia and Global Change*. Washington DC: American G, p. 262-273, 2009.

MARQUES, Márcia C M *et al.* Mata Atlântica – O desafio de transformar um passado de devastação em um futuro de conhecimento e conservação. In: PEIXOTO, A L; LUZ, J R P; BRITO, M A (Org.). *Conhecendo a Biodiversidade*. Brasília:Ed. Vozes, p.50-67, 2016.

MARQUES, Márcia C M.; GRELE, Carlos Eduardo Viveiros. *The Atlantic Forest History, Biodiversity, Threats and Opportunities of the Mega-diverse Forest*. Berlin Heidelberg: Springer, 2021.

MARTINELLI, Gustavo; MORAIS, Miguel Avila. *Livro vermelho da Flora do Brasil*. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013.

MCDONOUGH MACKENZIE, Caitlin; PRIMACK, Richard B.; MILLER-RUSHING, Abraham J. Local environment, not local adaptation, drives leaf-out phenology in common gardens along an elevational gradient in Acadia National Park, Maine. *American Journal of Botany*, v. 105, n. 6, p. 986–995, 2018.

- MCVICAR, Tim R.; KÖRNER, Christian. On the use of elevation, altitude, and height in the ecological and climatological literature. *Oecologia*, v. 171, n. 2, p. 335–337, 2013.
- MIDOLO, Gabriele *et al.* Global patterns of intraspecific leaf trait responses to elevation. *Global Change Biology*, v. 25, n. 7, p. 2485–2498, 2019.
- MITTERMEIER, Russell A. *et al.* Hotspots revisited: earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions. *University of Chicago Press, Boston*, v. 2ed, 2005.
- MOORE, Caitlin E. *et al.* The effect of increasing temperature on crop photosynthesis: From enzymes to ecosystems. *Journal of Experimental Botany*, v. 72, n. 8, p. 2822–2844, 2021.
- MORET, Pierre *et al.* Humboldt's Tableau Physique revisited. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 116, n. 26, p. 12889–12894, 2019.
- MUNNÉ-BOSCH, Sergi. Sex ratios in dioecious plants in the framework of global change. *Environmental and Experimental Botany*, v. 109, p. 99–102, 2015.
- MYERS, Norman *et al.* Biodiversity hotspot for conservation priorities. *Nature*, v. 403, p. 853–858, 2000.
- NEVES, Danilo M. *et al.* Dissecting a biodiversity hotspot: The importance of environmentally marginal habitats in the Atlantic Forest Domain of South America. *Diversity and Distributions*, v. 23, n. 8, p. 898–909, 2017.
- NIEVOLA, Catarina C *et al.* Rapid responses of plants to temperature changes. *Rapid responses of plants to temperature changes*. v. 8940, 2017.
- NOAA RESEARCH. *Trends in Atmospheric Carbon Dioxide*. Disponível em: <<https://gml.noaa.gov/ccgg/trends/global.html>>.
- OBESO, José Ramón; RETUERTO, Rubén. Dimorfismo sexual en el acebo, *Ilex aquifolium*: ¿coste de la reproducción, selección sexual o diferenciación fisiológica? Sexual. *Revista Chilena de Historia Natural*, v. 75, n. 1, p. 67–77, 2002.
- OHSAWA, T. *et al.* Altitudinal genetic diversity and differentiation of *Quercus crispula* in the Chichibu Mountains, central Japan. *International Journal of Plant Sciences*, v. 168, n. 3, p. 333–340, 2007.
- OHSAWA, Takafumi; IDE, Yuji. Global patterns of genetic variation in plant species along vertical and horizontal gradients on mountains. *Global Ecology and Biogeography*, v. 17, n. 2, p. 152–163, 2008.
- OREN, Ram *et al.* Soil fertility limits carbon sequestration by forest ecosystems in a CO₂-enriched atmosphere. *Nature*, v. 411, n. 6836, p. 469–472, 2001.
- ORT, Donald R *et al.* Global Biogeochemical Cycles photosynthesis models. *Global*

Biogeochemical Cycles, p. 1–13, 2015.

OTEGUI, M. Sinopsis del género *Myrsine* L. (Myrsinaceae) en el Cono Sur de América del Sur. *Candollea*, v. 53, n. 10, p. 133–157, 1998.

OZENDA, Paul; BOREL, Jean-Luc. Mögliche ökologische Auswirkungen von Klimaveränderungen in den Alpen. *CIPRA kleine Schriften*, n. 8/91, p. 71, 1991.

PASCOTTO, Márcia C. *Revista Brasileira de Zoologia* 24 (3): 735-741, setembro 2007. v. 24, n. 1984, p. 735–741, 2007.

PENG, Yunke; BLOOMFIELD, Keith J.; PRENTICE, Iain Colin. A theory of plant function helps to explain leaf-trait and productivity responses to elevation. *New Phytologist*, v. 226, p. 1274–1284, 2020.

PIGLIUCCI, Massimo. Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture. *JHU Press*, p. 2001, 2001.

POORTER, Hendrik *et al.* Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): A meta-analysis. *New Phytologist*, v. 182, n. 3, p. 565–588, 2009.

PRATT, Jessica D.; MOONEY, Kailen A. Clinal adaptation and adaptive plasticity in *Artemisia californica*: Implications for the response of a foundation species to predicted climate change. *Global Change Biology*, v. 19, n. 8, p. 2454–2466, 2013.

RAVEN, John A; HANDLEY, Linda L; ANDREWS, Mitchell. Global aspects of C/N interactions determining plant - environment interactions. *Journal of Experimental Botany*, v. 55, n. 394, p. 11–25, 2004.

RENNER, Susanne S.; RICKLEFS, Robert E. Dioecy and its correlates in the flowering plants. *American Journal of Botany*, v. 82, n. 5, p. 596–606, 1995.

RENNER, Susanne S. The relative and absolute frequencies of angiosperm sexual systems: Dioecy, monoecy, gynodioecy, and an updated online database. *American Journal of Botany*, v. 101, n. 101, p. 1–9, 2014.

REZENDE, C. L. *et al.* From hotspot to hopespot: An opportunity for the Brazilian Atlantic Forest. *Perspectives in Ecology and Conservation*, v. 16, n. 4, p. 208–214, 2018.

RODRIGUES, Ricardo Ribeiro. *Pacto pela restauração da Mata Atlântica*. São Paulo: Instituto BioAtlântica, 2009.

SAGE, Rowan F.; KUBIEN, David S. The temperature response of C₃ and C₄ photosynthesis. *Plant, Cell and Environment*, v. 30, n. 9, p. 1086–1106, 2007.

SALVUCCI, Michael E.; CRAFTS-BRANDNER, Steven J. Relationship between the heat tolerance of photosynthesis and the thermal stability of rubisco activase in plants from contrasting thermal environments. *Plant Physiology*, v. 134, n. 4, p. 1460–1470, 2004.

SAMES, B. *et al.* Review: Short-term sea-level changes in a greenhouse world — A view from the Cretaceous. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, v. 441, p. 393–411, 2016.

SÁNCHEZ-TAPIA, Andrea *et al.* Environmental and geographical space partitioning between core and peripheral Myrsine species (Primulaceae) of the Brazilian Atlantic Forest. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 187, n. 4, p. 633–652, 2018.

SÁNCHEZ-VILAS, J.; RETUERTO, R. Sex-specific physiological, allocation and growth responses to water availability in the subdioecious plant *Honckenya peploides*. *Plant Biology*, v. 11, n. 2, p. 243–254, 2009.

SHARKEY, Thomas D. *et al.* Limitation of Photosynthesis by Carbon Metabolism. *Plant Physiology*, v. 81, n. 4, p. 1123–1129, 1986.

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.

SIMPSON, Angela H.; RICHARDSON, Sarah J.; LAUGHLIN, Daniel C. Soil–climate interactions explain variation in foliar, stem, root and reproductive traits across temperate forests. *Global Ecology and Biogeography*, v. 25, n. 8, p. 964–978, 2016.

SIQUEIRA, Josafá Carlos de Siqueira. Impactos das mudanças climáticas na biodiversidade. *Pesquisas botânicas*, v.61. p. 325–329, 2010.

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

SUN, Xiao *et al.* Phenotypic plasticity controls regional-scale variation in *Quercus variabilis* leaf $\delta^{13}\text{C}$. *Trees - Structure and Function*, v. 30, n. 4, p. 1445–1453, 2016.

TABARELLI, Marcelo *et al.* Challenges and Opportunities for Biodiversity Conservation in the Brazilian Atlantic Forest. *Conservation Biology*, v. 19, n. 3, p. 695–700, 2005.

TERASHIMA, I. *et al.* Is photosynthesis suppressed at higher elevations due to low CO₂ pressure? *Ecology*, v. 76, n. 8, p. 2663–2668, 1995.

UNFCCC. Report of the intergovernmental negotiating committee for a framework convention on climate change on the work of the second part of its fifth session, held at New York from 30 april to 9 may 1992. 1992, Ney York: UNFCCC, 1992.

VALE, Mariana M.; ALVES, Maria Alice S.; LORINI, Maria Lucia. Mudanças climáticas: Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade Brasileira. *Oecologia Brasiliensis*, v. 13, n. 3, p. 518–535, 2009.

VIALET-CHABRAND, Silvere; LAWSON, Tracy. Dynamic leaf energy balance: deriving stomatal conductance from thermal imaging in a dynamic environment.

Journal of experimental botany, v. 70, n. 10, p. 2839–2855, 2019.

VILAS, Julia Sánchez; RETUERTO, Rubén. Sexual dimorphism in water and nitrogen use strategies in *Honckenya peploides*: Timing matters. *Journal of Plant Ecology*, v. 10, n. 4, p. 702–712, 2017.

VITASSE, Yann *et al.* Genetic vs. non-genetic responses of leaf morphology and growth to elevation in temperate tree species. *Functional Ecology*, v. 28, n. 1, p. 243–252, 2014.

VON HUMBOLDT, Alexander; BONPLAND, Aime. *Essay on the Geography of Plants*. the univer ed. chicago and london: 2009.

WALKER, Berkley J. *et al.* The Costs of Photorespiration to Food Production Now and in the Future. *Annual Review of Plant Biology*, v. 67, n. January, p. 107–129, 2016.

WANG, Han *et al.* Photosynthetic responses to altitude: an explanation based on optimality principles. *New Phytologist*, v. 213, n. 3, p. 976–982, 2017.

WU, Jiamei *et al.* Photosynthetic capacity of male and female *Hippophae rhamnoides* plants along an elevation gradient in eastern Qinghai-Tibetan Plateau , China. *Tree Physiology*, v. 41, p. 76–88, 2021a.

WU, Xiaoyi *et al.* Differences in carbon and nitrogen metabolism between male and female *Populus cathayana* in response to deficient nitrogen. *Tree Physiology*, v. 41, n. 1, p. 119–133, 2021b.

ZUIDEMA, Pieter A. *et al.* Tropical forests and global change: Filling knowledge gaps. *Trends in Plant Science*, v. 18, n. 8, p. 413–419, 2013.

**CAPÍTULO 1 - A falta de coordenação entre os traços estomáticos e de
venação proporciona benefícios funcionais à espécie tropical dioica *Myrsine
coriacea***

Autores: PEREIRA, J. P.^{1,2} • GARBIN, M.L.² • CARRIJO, T.T.^{2*} • DA SILVA, J. A.
^{2,3} • BOURGGUIGNON, T. P.² • CAVATTE, P. C.^{1,2}

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, Brasil

² Laboratório de Botânica, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, Brasil

³ Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, Fazenda Experimental de Bananal do Norte, Cachoeiro de Itapemirim, ES, Brasil

* Corresponding author: TT Carrijo, tcarrijo@gmail.com

Periódico submetido: "*Physiologia Plantarum*", fevereiro 2022

RESUMO

As mudanças climáticas afetarão a distribuição de muitas espécies de plantas tropicais. No entanto, a compreensão de como espécies dioicas tropicais lidam com diferentes condições ambientais ainda é limitada. Para abordar esta questão, investigamos como os atributos de características secundárias da espécie dioica *Myrsine coriacea* variam em um gradiente altitudinal. Oitenta plantas (40 machos e 40 fêmeas) foram selecionadas em sete populações naturais. Foram analisadas as características foliares: morfológicas, estomáticas e a composição isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$). Plantas fêmeas apresentaram maiores $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$ em relação aos machos, resultado associado com a maior capacidade de carboxilação. Plantas de ambos os sexos apresentaram estômatos menores e maior eficiência no uso da água em altitudes mais elevadas, e menor $\delta^{15}\text{N}$ e maiores relações carbono/nitrogênio em menores altitudes. Características estomáticas e de venação apresentaram falta de coordenação, que foi compensada pela variação na área foliar específica. Esse mecanismo foi essencial para aumentar o desempenho das plantas nas condições limitantes encontradas pela espécie em altitudes mais elevadas.

Palavras chaves: Eficiência no uso da água • estômatos • fisiologia vegetal • floresta tropical • gradiente altitudinal • isótopos • transpiração

ABSTRACT

Climate change will affect the distribution of many tropical plant species. However, the understanding of how tropical dioecious species cope with different environmental conditions is still limited. To address this question, we investigated how secondary trait attributes of the dioecious species *Myrsine coriacea* vary in an altitudinal gradient. Eighty plants (40 males and 40 females) were selected from seven natural populations. Leaf characteristics were analyzed: morphological, stomatal and isotopic composition of carbon ($\delta^{13}\text{C}$) and nitrogen ($\delta^{15}\text{N}$). Female plants showed higher $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$ compared to males, a result associated with a higher carboxylation capacity. Plants of both sexes had smaller stomata and higher water use efficiency at higher altitudes, and lower $\delta^{15}\text{N}$ and higher carbon/nitrogen ratios at lower altitudes. Stomatal and venation traits showed a lack of coordination, which was compensated by variation in specific leaf area. This mechanism was essential to increase plant performance in the limiting conditions encountered by the species at higher altitudes.

Keywords: Altitudinal gradient • isotopes • plant physiology • stomata • transpiration • tropical forest • water use efficiency

1. INTRODUÇÃO

As projeções climáticas apontam para riscos de extinções e modificações na distribuição espacial de várias espécies (ESSER; NEVES; JARENKOW, 2019; JOLY; METZGER; TABARELLI, 2014). No entanto, ainda existem incertezas sobre como as espécies que vivem em ecossistemas tropicais responderão às mudanças climáticas (CORLETT; WESTCOTT, 2013). Neste contexto, respostas fisiológicas das plantas às mudanças nas concentrações de dióxido de carbono e aumento das temperaturas são de grande interesse (YADUGIRI, 2010). Em resposta às mudanças climáticas, características secundárias (ou seja, características ecofisiológicas) podem levar a diminuição no desempenho e sucesso reprodutivo, levando a declínios populacionais das espécies (HULTINE et al., 2016; PETRY et al., 2016; RETUERTO; VILAS; JULIA; VARGA, 2018). Um aspecto importante, mas muitas vezes negligenciado a esse respeito, é que as respostas específicas do sexo podem levar a mudanças na proporção sexual e no alcance de distribuição de uma espécie (TOGNETTI, 2012). A compreensão de como espécies dioicas, especialmente nos trópicos, lidam com diferentes condições ambientais ainda é limitada.

Plantas dioicas apresentam indivíduos com flores pistiladas ou estaminadas (RENNER; RICKLEFS, 1995). Essas espécies representam cerca de 6% de todas as espécies de angiospermas (BARRETT; JOSH, 2013), e podem ocorrer em grandes proporções em florestas tropicais (MATALLANA et al., 2005), especialmente em estágios iniciais de sucessão (RÉJOU-MÉCHAIN; CHEPTOU, 2015). Nesses ecossistemas, diferenças de altitude pode ser determinantes para mudanças nas respostas fisiológicas das plantas (ROSADO et al., 2012). Dessa forma, florestas tropicais em paisagens altamente acidentadas fornecem um laboratório natural para o estudo de espécies dioicas, pois permitem avaliar como as variações ambientais afetam esses organismos.

A diminuição da pressão atmosférica com o aumento da altitude, juntamente com diminuições paralelas na pressão parcial de oxigênio (pO_2) e de dióxido de carbono (pCO_2), é a única condição ambiental que não é influenciada pelas condições microclimáticas locais (GALE, 1972). No entanto, os efeitos da altitude sobre a vegetação é o resultado combinado de diversos fatores que também variam ao longo do gradiente (MCCAIN; GRYTNES, 2010). Por exemplo, a diminuição na

temperatura do ar, aumento na intensidade de radiação e radiação UV-B estão associados a aumentos de altitude (KÖRNER, 2007). Tais condições ambientais podem afetar importantes processos fisiológicos, como fotossíntese, respiração e transpiração (SHI et al., 2006; WANG et al., 2017).

A transpiração pode ser mais intensa para espécies em altitudes mais elevadas, devido a diminuição de $p\text{CO}_2$ que pode aumentar a condutância estomática (g_s) para manter as taxas fotossintéticas (KÖRNER, 2007; LEUSCHNER, 2000). Plantas tropicais em altitudes mais elevadas apresentam atributos foliares associados ao uso conservado da água (ROSADO-SOUZA et al., 2015; VITÓRIA; ALVES; SANTIAGO, 2019), e seu estabelecimento está relacionado a ajustes no funcionamento estomático (HILL et al., 2014; LIU et al., 2018; MCELWAIN; YIOTIS; LAWSON, 2016; SHI et al., 2015; WANG et al., 2017; ZHAO et al., 2019). O controle estomático das trocas gasosas pode envolver respostas fisiológicas de curto prazo (e.g. variação na g_s) e/ou mudanças morfológicas de longo prazo (e.g. alterações na densidade estomática, SD) (CALDERA et al., 2017; FRANKS et al., 2017; SHI et al., 2015). As modificações morfológicas a nível foliar são normalmente irreversíveis, ao contrário das respostas fisiológicas que são dinâmicas e frequentemente reversíveis. Portanto, modificações morfológica nas características das folhas associadas ao funcionamento estomático (e.g., densidade de venação, VD) devem ser estreitamente coordenadas para melhorar o desempenho (BRODRIBB; MCADAM; CARINS MURPHY, 2017; KOOKE; KEURENTJES, 2012). Foi proposto por ZHAO et al. (2017) que ao longo de gradientes ambientais, a manutenção do número de estômatos por unidade de comprimento de nervura (SD/VD), indica a coordenação entre o fluxo hídrico na fase gasosa (perda de água pelos estômatos) e líquida (distribuição de água pelas nervuras). Entretanto, a ausência de coordenação entre SD e VD pode ser o resultado da resposta a condições ambientais heterogêneas (ZHAO et al., 2016), permitindo o desenvolvimento de diversas estratégias e favorecendo a adaptação da espécie. Assim, a existência de diferentes padrões em características foliares que refletem no desempenho fotossintético em detrimento as condições ambientais, demonstra a importância das estratégias adaptativas para a sobrevivência dos indivíduos.

A SD é uma das características estomáticas mais importantes, variando ao longo dos gradientes altitudinais. Seus valores geralmente aumentam com a

altitude (ver, KOUWENBERG et al., 2005), e estão associados com a diminuição no tamanho dos estômatos (DEKKER et al., 2016; QI; TORII, 2018). Aumentos em SD combinados com diminuições no tamanho dos estômatos permitem aumentos rápidos em g_s , maximizando a absorção de CO_2 (HETHERINGTON; WOODWARD, 2003). No entanto, pode haver uma diversidade de respostas nas características estomáticas ao longo de um gradiente de altitude, em função (i) dos efeitos de outros fatores ambientais que podem covariar com a altitude, (ii) de fatores específicos da espécie (e.g. hábito de crescimento e estratégia econômica de folhas) (SHI et al., 2015); e (iii) do sexo (LI et al., 2007). Apesar do dimorfismo sexual em características estomáticas entre árvores fêmeas e machos terem sido investigadas em muitas espécies (DAWSON; GEBER, 1999; BARRETT; JOSH, 2013; MUNNÉ-BOSCH, 2015; STROMME et al., 2018), poucos foram os estudos que consideraram o efeito da dioecia em plantas arbóreas ao longo de gradientes de altitude (LI et al., 2007; BUCHER et al., 2016). É importante ressaltar que estes estudos foram realizados em regiões de clima temperado, então os resultados encontrados para o dimorfismo, podem não refletir as variações em espécies situadas em gradientes de altitude em climas tropicais.

O dimorfismo sexual em características secundárias permite que os sexos adotem diferentes estratégias de absorção, utilização e alocação de recursos, além de impactar na capacidade de resistência a estresses (LI et al., 2007; JUVANY; MUNNÉ-BOSCH, 2015; HULTINE et al., 2016; WU et al., 2021a). Durante a fase reprodutiva, por apresentarem maior demanda de fotoassimilados devido à produção de frutos, plantas fêmeas quando comparadas com machos, apresentam maior necessidade de absorção de carbono (ver OBESO; RETUERTO, 2002). Portanto, devem apresentar características estomáticas que favoreçam a absorção de CO_2 , em detrimento de maiores taxas de transpiração e, conseqüentemente, menor eficiência no uso da água (WUE) (DAWSON et al., 2004; XU; ZHOU 2008; MELNIKOVA et al., 2017). No entanto, o dimorfismo sexual em características relacionadas com as trocas gasosas ao longo de gradientes de altitude em ecossistemas tropicais precisa de mais compreensão. Além disso, a maioria das características usadas para investigar as diferenças ecofisiológicas entre plantas fêmeas e machos é determinada de forma rápida e pontual, podendo não representar a integração com os processos que ocorrem ao longo do tempo. Portanto, existe a necessidade de estudos comparativos mais longos entre machos

e fêmeas que integre transpiração e fotossíntese. Os isótopos são uma técnica eficaz para entender os efeitos cumulativos das trocas gasosas ao longo do tempo, pois integram todo o período de formação do tecido vegetal (FARQUHAR; EHLERINGER; HUBICK, 1989). Eles também fornecem informações sobre condições ambientais passadas e presentes, além de integrar diversos processos biogeoquímicos (DAWSON et al., 2002).

A escolha da espécie dioica *Myrsine coriacea* (Sw.) R. Br. ex -Roem . & Schult pertencente à família Primulaceae, se deu em função da ampla distribuição geográfica e ocorrência em diferentes condições ambientais (SÁNCHEZ-TAPIA et al., 2018). Dentro da Floresta Atlântica, indivíduos da espécie podem ser encontrados em campos de altitude, afloramentos rochosos, ecossistemas costeiros, áreas abertas e em bordas florestais tanto em florestas pluviais quanto semidecidual (CARRIJO et al., 2017; SÁNCHEZ-TAPIA et al., 2018). Esta ampla ocorrência compreende uma extensa variação de temperatura, solo, precipitação e condições topográficas (ver, SÁNCHEZ-TAPIA et al., 2018). Diante de tais características, *M. coriacea* surge como modelo para entender as respostas funcionais de árvores tropicais às mudanças climáticas.

Nosso objetivo foi compreender como indivíduos machos e fêmeas de *M. coriacea* de diferentes populações ao longo de um gradiente altitudinal na Floresta Atlântica, diferem em suas características morfológicas e estomáticas foliares. Além de determinar cinco características estomáticas, foram também determinadas três características morfológicas foliares e quantificado no tecido foliar a composição isotópica de carbono (C e $\delta^{13}\text{C}$) e nitrogênio (N e $\delta^{15}\text{N}$) como medidas da eficiência no uso de recursos integrados ao longo do tempo. Nossa hipótese é que *M. coriacea* apresente: (i) em altitudes mais elevadas, folhas de árvores fêmeas em relação às folhas de machos com maior condutância estomática máxima ($g_{w\text{max}}$), em consequência do aumento da SD e diminuição do tamanho dos estômatos; (ii) árvores machos em relação às fêmeas, com maior eficiência no uso da água (maior $\delta^{13}\text{C}$), independentemente da altitude; e (iii) características estomáticas coordenadas com a densidade de venação, independentemente da altitude e do sexo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostragem

Para o estudo foram selecionadas sete populações de *M. coriacea* localizadas em diferentes remanescentes da Floresta Atlântica ao longo de um gradiente de altitude de 2.135 m (de 39 m a 2.174 m) no Sudeste do Brasil (20°22' a 20°56' S; 40°25' a 41°49' W) (**Fig. 1**). Os dados de temperatura obtidos de data loggers (Onset, HOBO UA-002-64, Bourne, EUA) instalados em cada uma das sete populações relataram temperaturas médias entre abril de 2018 e novembro de 2018, englobando o ciclo fenológico da espécie, de $22,2 \pm 0,9$ °C para abaixo de 1.000 m e $18,3 \pm 1,5$ °C para acima de 1.000 m. A precipitação acumulada no mesmo período foi de 1.035 ± 24 mm abaixo de 1.000 m e 1.103 ± 29 mm acima de 1.000 m (AGRITEMPO, 2018). O portal Agritempo disponibiliza dados pluviométricos de 11.332 pontos da rede que são convertidos no sistema Agritempo para as chamadas estações virtuais, com resolução espacial de 25 x 25 km e resolução temporal de 30 dias. Cerca de 50% da precipitação acumulada ocorreu no período de frutificação (entre abril e novembro) independente da altitude.

Oitenta indivíduos adultos (40 machos e 40 fêmeas) foram selecionados no início do período de floração. As árvores com flores pistiladas foram identificadas como fêmeas, e aquelas que apresentavam flores estaminadas, foram identificadas como machos. As árvores selecionadas apresentavam aproximadamente a mesma altura e diâmetro à altura do peito. Para minimizar a variação ambiental local, todas as árvores selecionadas estavam a pleno sol, e foi feito um esforço para selecionar indivíduos que estivessem mais próximos uns dos outros. A altitude e latitude de cada indivíduo foram determinadas com um GPS (Etrex, GARMIN, Olathe, EUA). A altitude populacional foi obtida pela altitude média de todos os indivíduos selecionados em uma população. Assim, as altitudes médias das populações, em metros, foram (intervalo entre parênteses): 39 (34-50); 657 (640-667); 930 (915-953); 1.092 (1.044-1.106); 1.229 (1.163-1.257); 1.863 (1.859-1.868); e 2.174 (2.121-2.185). Esses valores médios serão utilizados para designar cada população (veja a **Fig. 1** para as localizações de cada população). A população de menor altitude, a população 39, está situada dentro de uma floresta sazonalmente inundada em vegetação de dunas costeiras (Restinga, Parque Estadual Paulo César Vinha). As populações 657, 930, 1.092 e 1.229 estão localizadas em

florestas semidecíduas sob diferentes regimes de regeneração natural. As populações 1.863 e 2.174 estão localizadas em campos de altitude dentro do Parque Nacional do Caparaó.

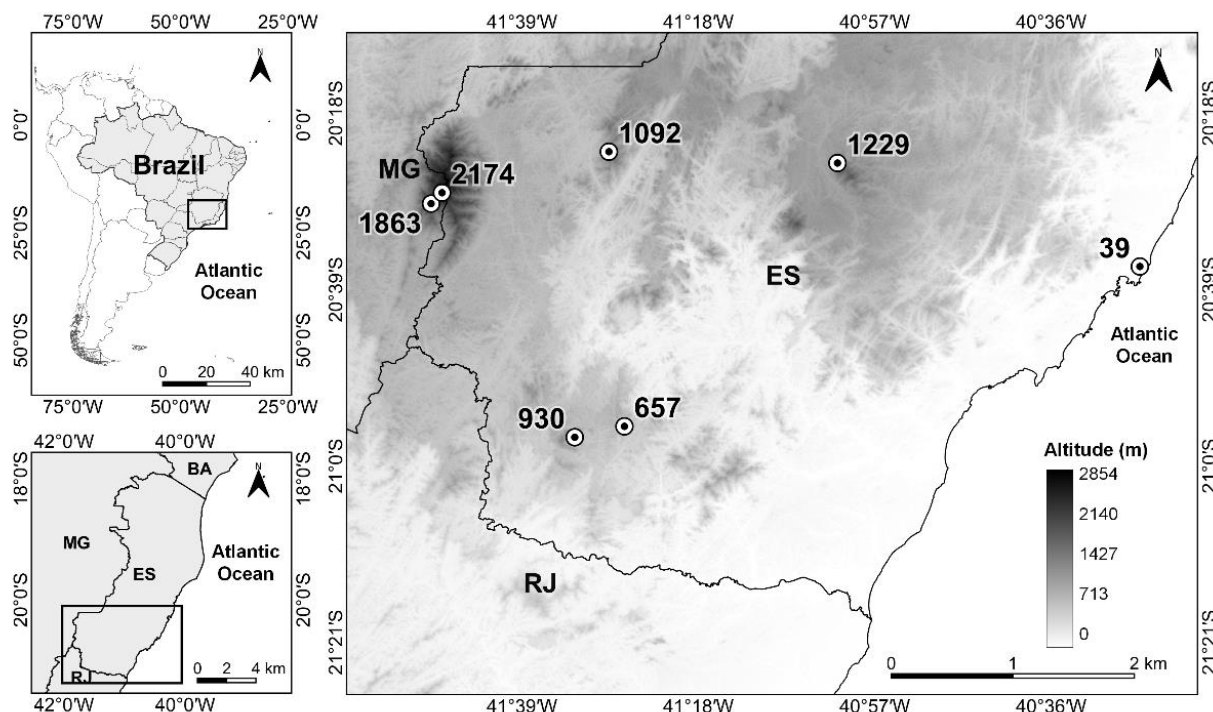


Figura 1. Localização das sete populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude na Floresta Atlântica. Canto superior esquerdo, localização do Brasil na América do Sul. Abaixo, à esquerda, Região Sudeste do Brasil em que se localizam as populações (estados: RJ - Rio de Janeiro, ES - Espírito Santo, MG - Minas Gerais e BA - Bahia). À direita, as localizações das sete populações com suas respectivas altitudes em metros.

As coletas de material vegetal ocorreram em dezembro de 2018, após o período de frutificação. Foram selecionados doze indivíduos, seis machos e seis fêmeas, com exceção da população 2.174, na qual oito indivíduos, quatro machos e quatro fêmeas, foram estudados devido ao número limitado de plantas individuais disponíveis atendendo aos critérios estabelecidos. Folhas do terceiro e quarto nó totalmente expandidas foram coletadas ao longo de toda a copa de todos os indivíduos.

2.2. Características estomáticas e densidade de venação e tricomas

Duas folhas de cada árvore foram coletadas e fixadas em FAA70 (solução aquosa de formaldeído a 37%, etanol a 50% e solução de ácido acético glacial a 13%) por 48 horas e então armazenadas em etanol a 70% (MARTINS et al., 2014). Um fragmento de lâmina foliar foi extraído da porção mediana de cada folha, evitando a nervura principal, e tratado com solução de hidróxido de sódio a 10% por 2 h a 60°C (**Fig. 2a**). As amostras foram então submetidas a quatro lavagens de 30 minutos em água destilada. O material foi clarificado com solução aquosa de hipoclorito de sódio 0,5% por aproximadamente 12h (**Fig. 2b**) e submetido a três lavagens adicionais de 30 minutos em água destilada. O material vegetal foi então desidratado com álcool 30% e 70% por dez minutos cada. Finalmente, fragmentos de folhas foram corados com safranina aquosa a 1% (JOHANSEN, 1940) por 24 h (**Fig. 2c**) e montados em gelatina glicerinada (**Fig. 2d**) (KAISER, 1880).

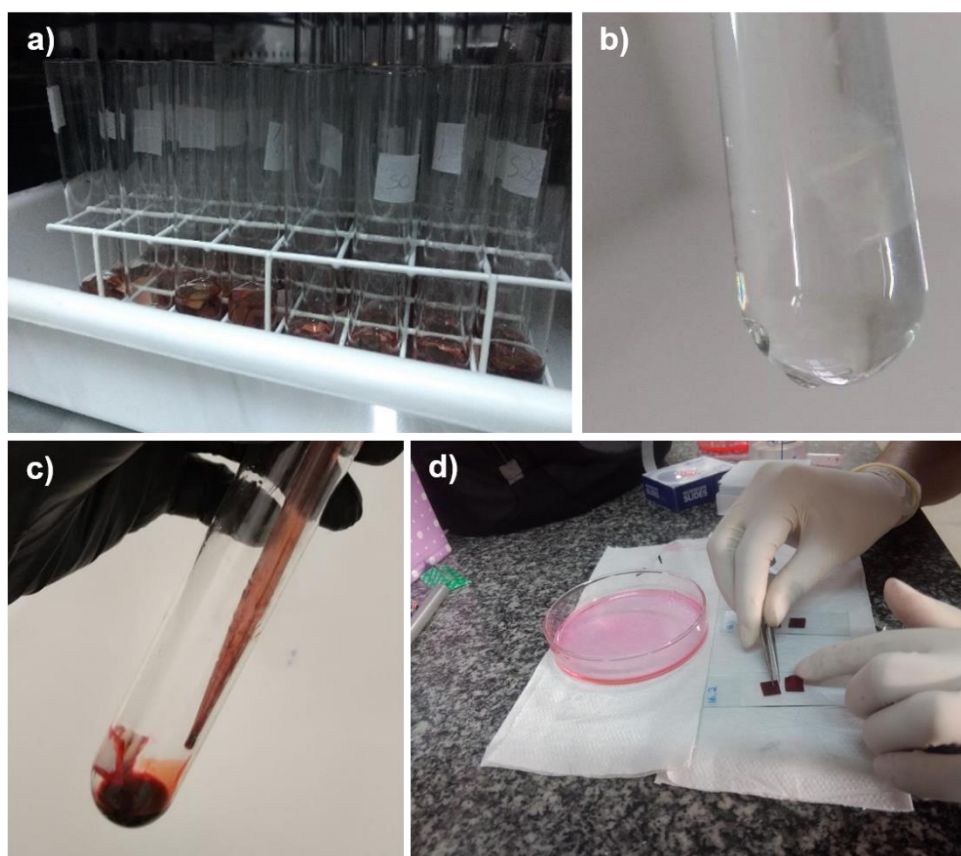


Figura 2. Etapas do processo de diafanização. a) fragmentos foliares em solução de hidróxido de sódio a 10% em estufa a 60°C; b) amostra clarificada após aproximadamente 12 h em solução aquosa de hipoclorito de sódio 0,5%; c) adição de safranina aquosa a 1% em fragmentos clarificados; d) Montagem das lâminas

As imagens dos cortes foram capturadas usando um microscópio de luz (Leica DM2500 LED, Wetzlar, Alemanha) equipado com um sistema de captura de imagem acoplado a uma câmera digital (Leica MC 170-HD, Wetzlar, Alemanha). Em cada fragmento, foram obtidas duas imagens em dois campos por ampliação. As imagens foram digitalizadas e armazenadas no Leica Application Suite (Versão 4.9.0, Wetzlar, Alemanha). Para medir a densidade de venação (VD; mm mm^{-2}) e de tricomas (TD; trichomes mm^{-2}), as lâminas foram fotomicrografadas com a ampliação de 5x. Para a densidade estomática (SD; pores mm^{-2}), foram fotomicrografadas com a ampliação de 20x. O comprimento da célula guarda (L; μm) e do poro estomático (p ; μm) foram determinados utilizando 10 estômatos em cada campo de visão, considerando o aumento de 40x, seguindo protocolo de (SACK; BUCKLEY, 2016). Todas as medições foram feitas usando o programa Image Pro-Plus (versão 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, USA).

A VD e SD foram determinadas como descrito em MARTINS et al. (2014). A SD foi obtida após a divisão do número de estômatos contabilizados pela área total da imagem. A VD foi obtida após a divisão da soma dos comprimentos totais das nervuras pela área total da imagem. A TD foi obtida após a divisão do número de tricomas contabilizados pela área total da imagem, conforme LABOURIAU et al., (1961). A partir dos dados de SD, L e p , também foram calculados índice de área de poro estomático (SPI; adimensional) e a condutância estomática máxima ($g_{w\text{max}}$; $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A SPI foi determinada conforme equação proposta por SACK et al. (2003). Enquanto a $g_{w\text{max}}$ foi calculada seguindo MARTINS et al. (2014), alterando os valores da difusão do vapor de água no ar (dw) e do volume molar de ar (v) de acordo com as fórmulas e constantes disponibilizadas em WANG et al. (2017).

2.3. Área foliar específica e composição isotópica de carbono e nitrogênio

Para determinar a área foliar específica (SLA; $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$), composição isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$; ‰) e de nitrogênio ($\delta^{15}\text{N}$; ‰), foram coletadas dez folhas de acordo com CAVATTE et al. (2012). As concentrações totais de C e N foram determinadas usando um analisador elementar (Carlo Erba, Milão, Itália), enquanto as composições isotópicas foram determinadas usando um espectrômetro de

massa de razão isotópica (IRMS Delta Plus, Finnigan Mat, San Jose, EUA) no Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo. As equações propostas por Farquhar et al. (1989) foram usadas para calcular $\delta^{13}\text{C}$ e $\delta^{15}\text{N}$, usando o padrão Vienna Pee Dee Belemnite para C, e ar atmosférico N_2 para N. O desvio padrão foi menor que 0,1‰ após três leituras da mesma amostra. A relação entre a concentração de CO_2 intracelular (C_i) e atmosférica (C_a), denominada de relação C_i/C_a , foi estimada utilizando os dados de composição isotópica de carbono, seguindo Farquhar and Sharkey (1982). A razão isotópica ($^{13}\text{CO}_2:^{12}\text{CO}_2$) no ar atmosférico foi assumida como constante e igual a -8‰. Foram utilizados valores padrão de fracionamento isotópico para plantas C_3 . Tal fracionamento é devido à difusão de CO_2 através dos estômatos (4,4‰) causada pelo processo de carboxilação do Ciclo de Calvin (27‰).

2.4. Análise de dados

Os dados foram organizados em uma matriz de indivíduos (80) por características (13), tendo como fatores sexo e altitude. As características estão listadas na **Tabela 1**. As análises multivariadas foram usadas pela primeira vez para comparar populações e sexos. Box plots e regressões foram então usados para comparar sexos e populações ao longo do gradiente. As características foram comparadas usando um gráfico de correlação.

Para análise multivariada, os dados foram padronizados (média zero e variância unitária) e a distância euclidiana foi usada como medida de dissimilaridade (LEGENDRE; LEGENDRE, 2012). A análise de variância permutacional multivariada (PERMANOVA, ANDERSON, 2001) foi usada para testar as diferenças e a interação entre sexo e altitude. Este teste também foi usado para comparações pareadas entre características. Um teste de dispersão multivariada também foi aplicado (PERMDISP, ANDERSON, 2006), pois as diferenças entre os grupos podem ser devido a efeitos de localização ou dispersão (ver, WARTON et al., 2012). Uma análise de coordenadas principais (PCoA) foi utilizada para visualizar como as unidades amostrais (árvores individuais) se organizam no espaço multivariado. Uma análise canônica de componentes principais (CAP, ANDERSON; ROBINSON 2003, ANDERSON; WILLIS 2003), usando sexo e altitude como restrições, foi usada para testar diferenças de atributos

de características entre árvores. Apenas características independentes foram usadas para esta análise (L, g_{wmax} , SLA, VD, TD, $\delta^{13}C$, $\delta^{15}N$ e C/N), ou seja, aquelas cujos valores foram calculados a partir de outras características foram excluídas para fornecer uma melhor exibição visual.

Boxplots foram usados para descrever os padrões de dispersão para todas as características que diferiram entre machos e fêmeas. Regressões lineares foram realizadas utilizando altitude como fator quantitativo e valores médios de características dentro de cada população como resposta. Por fim, os coeficientes de correlação de Pearson foram usados para testar associações entre as características. Todas as análises foram executadas no ambiente R (versão 3.5.1; R Core Team 2018) usando os pacotes '*vegan*' (OKSANEN et al., 2020), '*corrplot*' (WEI et al., 2017), '*Hmisc*' (HARRELL JR, 2020), '*ggplot2*' (WICKHAM et al., 2020) e '*cowplot*' (WILKE, 2020).

3. RESULTADOS

Nenhuma interação significativa foi encontrada entre sexo e altitude usando o conjunto de dados multivariado ($P_{sex*alt} = 0,71$; **Fig. 3a**) e não ocorreram diferenças significativas entre plantas machos e fêmeas ($P_{sex} = 0,32$; **Fig. 3a**). No entanto, ocorreram diferenças significativas entre as populações ($P_{alt} = 0,001$; **Fig. 3b**).

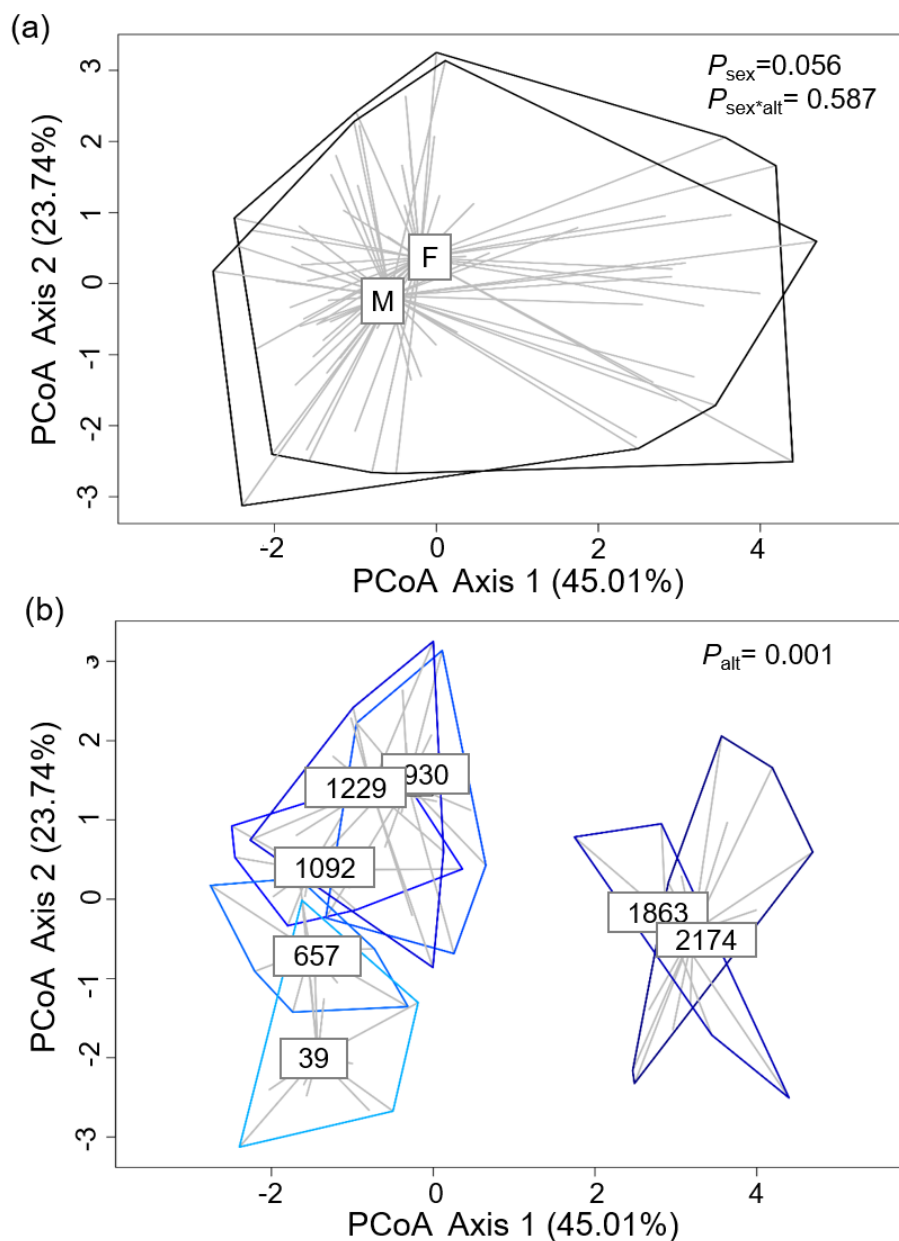


Figura 3. Análises de coordenadas principais (PCoA) de 80 indivíduos de *Myrsine coriacea* distribuídos ao longo de um gradiente altitudinal da Floresta Atlântica. Oito características foram usadas: comprimento da célula-guarda (L), condutância estomática máxima (g_{wmax}), área foliar específica (SLA), densidade de nervuras (VD), densidade de tricomas (TD), composição isotópica do carbono foliar ($\delta^{13}C$), composição isotópica do nitrogênio da folha ($\delta^{15}N$) e razão carbono da folha para nitrogênio (C/N). **a)** machos (M) e fêmeas (F); **b)** as sete populações representadas em um gradiente de cor azul de tons mais claros a mais escuros para altitudes mais baixas a mais altas, respectivamente. Sexo, em **(a)**, e valores altitudinais, em **(b)**, são mostrados nos centroides para cada população. As linhas contínuas representam o *convex-hull* para cada grupo. As linhas cinzas são a distância de cada planta individual aos seus respectivos centroides para sexo, em **(a)**, e população, em **(b)**. Os valores *P* para comparações de grupos são mostrados no canto superior direito de cada figura.

A análise canônica de componentes principais (CAP; **Fig. 4**) revelou um padrão significativo ($P < 0,0001$) de diferenciação entre populações no espaço multivariado. As duas populações de maior altitude (1.863 e 2.174 m) foram colocadas no lado direito do gráfico, enquanto as demais populações foram colocadas no lado esquerdo. Indivíduos das populações 1.863 e 2.174 m apresentaram folhas com maiores valores de VD, TD e $\delta^{13}\text{C}$, mas menores valores de L, $g_{w\max}$ e SLA, quando comparados às demais populações (**Fig. 4**). O segundo eixo do CAP revelou uma distinção entre populações que é impulsionada principalmente por populações abaixo de 1.250 m. Os quadrantes superiores contêm indivíduos das populações em menores altitudes (39 e 657 m), enquanto todos os outros indivíduos estão presentes principalmente nos dois quadrantes inferiores. Indivíduos das populações 39 e 657 m apresentaram folhas com maiores valores de razão C/N e menores para $\delta^{15}\text{N}$ em relação as demais populações (**Fig. 4**).

Não houve interação significativa entre sexo e altitude para as características analisadas individualmente. Plantas machos e fêmeas diferiram significativamente para C_i/C_a , $\delta^{13}\text{C}$, N e C/N (**Tabela 1**). Folhas de plantas fêmeas tiveram valores mais baixos de C_i/C_a e C/N (**Fig. 5a e 5d**) e maiores valores de $\delta^{13}\text{C}$ e N (**Fig. 5b e 5c**), quando comparados com plantas machos, independentemente da altitude. Todos os traços, exceto a SD ($P > 0,05$) diferiram significativamente entre as populações ($P < 0,001$) (**Tabela 1**).

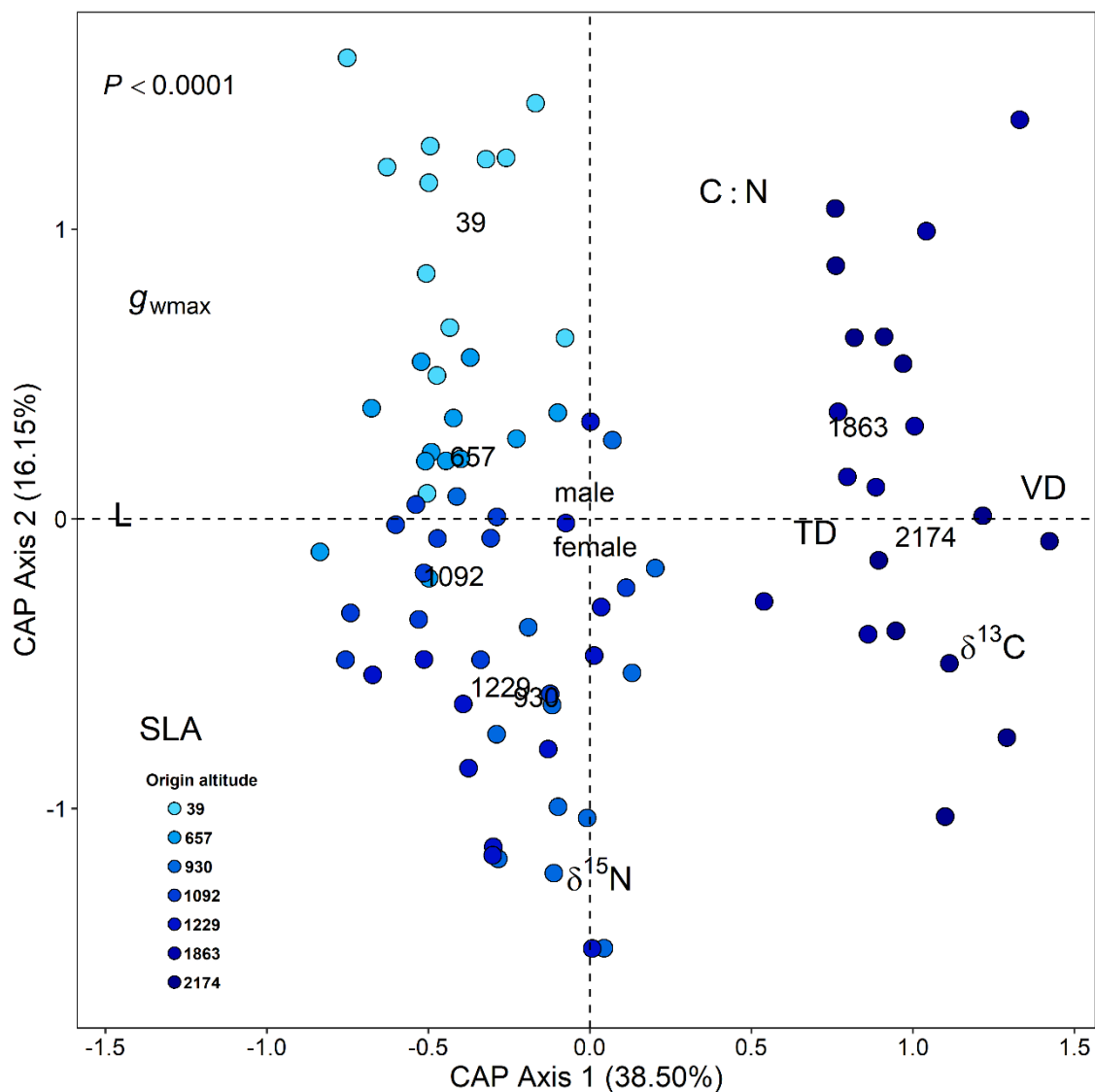


Figura 4. Gráfico da análise canônica de coordenadas principais (CAP) de 80 indivíduos de *Myrsine coriacea* (pontos) distribuídos ao longo de um gradiente altitudinal (escala azul) na Floresta Atlântica. Oito características foram usadas: L (comprimento da célula-guarda), g_{wmax} (condutância estomática máxima), SLA (área foliar específica), VD (densidade de venação), TD (densidade do tricoma), $\delta^{13}C$ (composição isotópica do carbono da folha), $\delta^{15}N$ (composição isotópica de nitrogênio foliar) e C/N (razão carbono foliar para nitrogênio). O sexo (M, masculino; F, feminino) e as altitudes das populações (em metros) são plotados em seus centroides. O valor P foi gerado por permutação e compara grupos populacionais.

Tabela 1. Porcentagem da soma total dos quadrados explicada pelo modelo (sexo e altitude, R^2), por cada fator (sexo, altitude) e o termo de interação (sexo*altitude) usando PERMANOVA para árvores de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude na Floresta Atlântica. As características estomáticas são: SD (densidade estomática), L (comprimento da célula-guarda), ρ (comprimento dos poros estomáticos), SPI (índice de poros estomáticos) e g_{wmax} (condutância estomática máxima). As características morfológicas da folha são: SLA (área foliar específica), VD (densidade da veia), TD (densidade do tricoma), $\delta^{13}C$ (composição isotópica do carbono foliar), composição isotópica $\delta^{15}N$ do nitrogênio foliar), C_i/C_a (razão entre a concentração interna e ambiente de CO_2), N (concentração de nitrogênio foliar) e C/N (razão entre a composição foliar de carbono e nitrogênio). Os valores são a soma dos quadrados dividida pela soma total dos quadrados; R^2 é a soma dos quadrados dos tratamentos dividido pela soma dos quadrados total; significativo em *** $P < 0,001$, ** $P < 0,01$, * $P < 0,05$ usando estatística F.

Atributos	R^2	Sexo	Altitude	Sexo* Altitude
SD	21,54	1,95	12,26	7,33
L	74,80	1,19	71,10***	2,51
ρ	69,23	1,22	66,26***	1,75
SPI	48,96	0,04	44,81***	4,11
g_{wmax}	43,37	0,03	40,45***	2,89
C_i/C_a	69,29	2,80*	66,41***	0,08
SLA	76,71	0,08	74,68***	1,95
VD	69,47	0,12	67,66***	1,69
TD	35,35	1,80	29,13***	4,42
$\delta^{13}C$	69,96	2,68**	66,38***	0,90
$\delta^{15}N$	51,49	1,63	46,50***	3,36
N	49,74	2,99*	42,29***	4,46
C/N	49,51	2,90*	41,72***	4,89

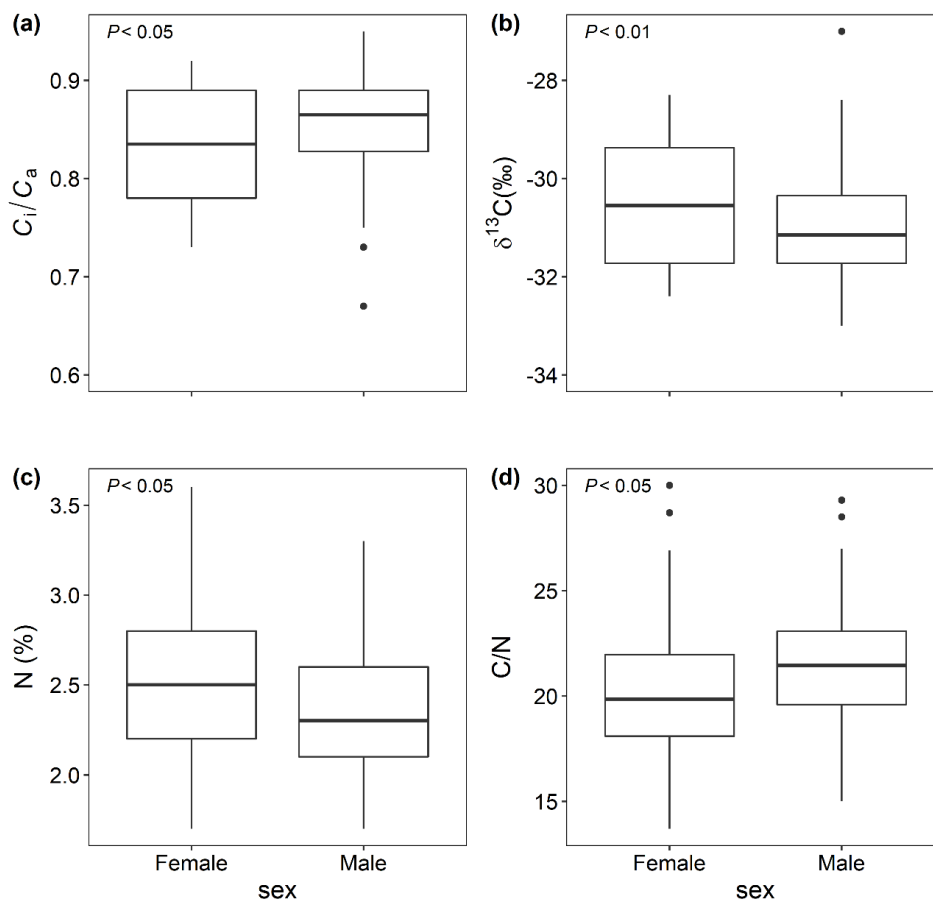


Figura 5. Boxplots descrevendo as distribuições de valores para plantas fêmeas e machos de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude na Floresta Atlântica, para atributos/parâmetros que diferiram significativamente entre os sexos. **(a)** razão entre a concentração interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a); **(b)** composição isotópica do carbono da folha ($\delta^{13}C$); **(c)** concentração foliar de nitrogênio (N); **(d)** relação carbono-nitrogênio da folha (C/N). Os valores de P foram obtidos usando um teste PERMANOVA. As caixas representam o intervalo interquartil com uma linha horizontal para a mediana e os hastes representando o intervalo interquartil $1,5^*$ ou o ponto máximo e mínimo. Os pontos representam pontos fora do intervalo interquartil $1,5^*$.

As duas populações de maiores altitudes (1.863 e 2.174 m) apresentaram os menores valores médios de L e p e, conseqüentemente, os menores valores de g_{wmax} e SPI, em relação às populações de menores altitudes (**Tabela 2**). Ressalta-se que os valores da população 2.174 m foram ainda menores do que os da população 1.863 m. Especificamente, a população de 39 m (a mais baixa) teve um valor de L 26% maior do que a população de 2.174 m (a mais alta), e para p essa superioridade foi de 48% (**Tabela 2; Fig. 6a e 6b**). A população de 2.174 m teve um g_{wmax} 70% menor ($0,90 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) do que a população de 39 m ($3,01 \text{ mol}$

$\text{H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). As duas populações nas altitudes mais altas apresentaram C_i/C_a 17% menor (média de 0,77) do que as duas altitudes mais baixas (média de 0,90; **Tabela 2**).

A população de 2.174 m apresentou SLA 16% menor ($16,4 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$) do que a população de 1.863 m ($19,6 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$) e 34% menor do que a população de 39 m ($24,7 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$). No entanto, a população 39 m, a mais baixa em altitude, apresentou valores de SLA significativamente mais baixos do que as populações em altitudes intermediárias (**Tabela 2**). Por outro lado, o VD foi maior na população de 2.174 m, com média de $6,9 \text{ mm mm}^{-2}$. Esse valor foi 10% superior ao da população de 1.863 m ($6,2 \text{ mm mm}^{-2}$), e aproximadamente 25% superior à média de todas as outras populações ($5,2 \text{ mm mm}^{-2}$) (**Tabela 2; Fig. 6c e 6d**). As populações de 1.092 m e 2.174 m apresentaram os menores ($10 \text{ trichomes mm}^{-2}$) e maiores ($19 \text{ trichomes mm}^{-2}$) valores médios de TD, respectivamente. Com o aparecimento de dois tipos de tricomas exclusivos para a população localizada a 2.174 m (**Tabela 2, Fig. 6e e 6f**). A população de 39 m apresentou o menor valor médio para $\delta^{13}\text{C}$ ($-31,55\text{‰}$), enquanto maiores altitudes tiveram os maiores valores ($-28,71$ e $-29,50\text{‰}$ para as populações de 1.863 e 2.174 m, respectivamente). A população de 39 m também apresentou o menor valor médio para $\delta^{15}\text{N}$ ($-1,87\text{‰}$) (**Tabela 2**).

Tabela 2. Valores médios e coeficiente de variação (CV%) para características estomáticas, morfológicas foliares e composição isotópica foliar de carbono e nitrogênio em árvores de *Myrsine coriacea* distribuídas em sete populações ao longo de um gradiente de altitude da Floresta Atlântica. As altitudes estão em metros. Consulte a Tabela 1 para siglas. As médias seguidas da mesma letra não diferem significativamente ($P \leq 0,05$; teste de Scott-Knott).

Atributos	Altitude							CV
	39	657	930	1.092	1.229	1.863	2.174	
SD (pores mm ⁻²)	195	198	181	176	188	219	206	16,9
L (μm)	38,1 a	36,0 b	36,9 b	38,0 a	37,9 a	32,3 c	30,3 d	5,2
ρ (μm)	23,3 a	20,8 b	22,0 b	22,0 b	23,3 a	17,9 c	15,8 d	9,5
SPI (x10 ⁴)	2,8 a	2,5 b	2,4 b	2,5b	2,7 a	2,2 c	1,9 d	13,6
g_{wmax} (mol H ₂ O m ⁻² s ⁻¹)	3,01 a	2,18 b	1,95 c	1,79 c	1,94 c	1,23 d	0,90 d	16,4
G_i/C_a	0,88 b	0,91 a	0,82 d	0,87 b	0,84 c	0,75 f	0,79 e	4,4
SLA (cm ² g ⁻¹)	24,7 c	28,3 b	32,0 a	31,1 a	29,3 b	19,6 d	16,4 e	12,2
VD (mm mm ⁻²)	5,4 c	5,1 d	5,6 c	5,1 d	5,2 d	6,2 b	6,9 a	8,3
TD (trichomes mm ⁻²)	13 b	13 b	14 b	10 b	14 b	16 a	19 a	31,7
$\delta^{13}C$ (‰)	-31,55 e	-32,15 f	-30,29 c	-31,39 d	-30,72 d	-28,71 a	-29,50 b	-2,6
$\delta^{15}N$ (‰)	-1,87 d	-0,13 c	1,48 a	0,42 b	2,18 a	-0,73 c	0,76 b	404,4
N (%)	2,1 b	2,3 b	2,9 a	2,5 b	2,8 a	2,2 b	2,3 b	14,0
C/N	24,4 a	21,3 a	17,8 b	20,1 b	18,4 b	23,2 a	22,8 a	13,5

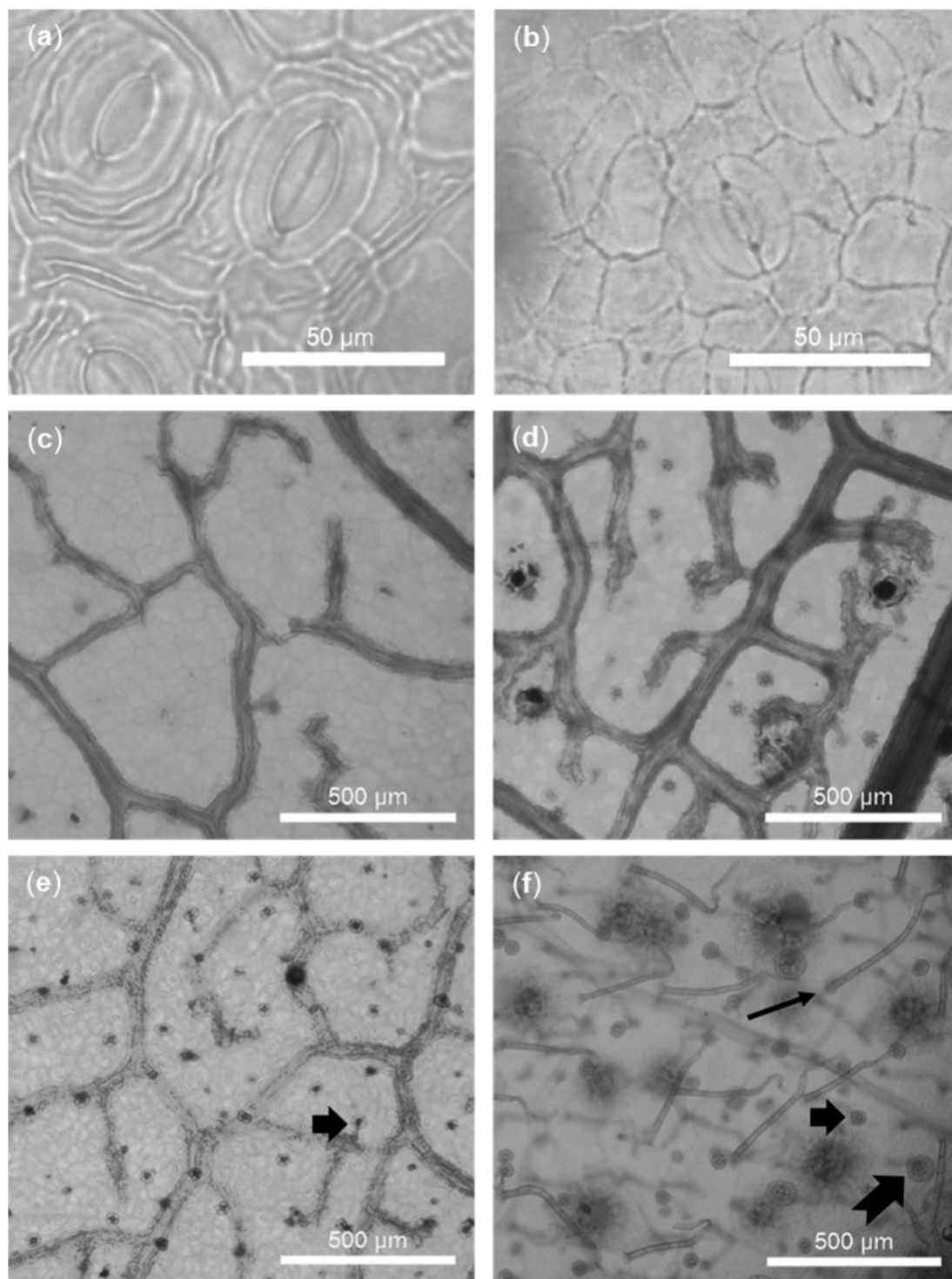


Figura 6. Epiderme abaxial de folhas de *Myrsine coriacea* apresentando características de tamanho de estômatos, nervuras e de tricomas entre a população de menor (39 m; **a**, **c** e **e**) e maior altitude (2.174 m; **b**, **d** e **f**). (**a**) e (**b**), estômatos; (**c**) e (**d**), padrões de nervuras foliares; (**e**) e (**f**), tricomas. Em (**e**), um único tipo de tricoma (tipo glandular 1) é representado pela seta. Em (**f**), cada uma das três setas diferentes representa três tipos diferentes de tricomas: seta mais longa e fina, um tricoma não glandular (uniseriado não ramificado); seta maior, um tricoma glandular tipo 2; a seta intermediária mostra um tricoma glandular tipo 1

Os modelos de regressão foram significativos para L , p , SPI, g_{wmax} , SLA e VD (**Fig. 7**). As relações entre altitude L , p , SLA e VD foram melhor descritas por equações polinomiais de segunda ordem (**Fig. 7a, 7b, 7e e 7f**). Os modelos lineares, por outro lado, descreveram melhor as relações entre altitude e SPI e g_{wmax} (**Fig. 7c e 7d**). As relações entre altitude e L , p e SLA tiveram um ponto máximo (coeficiente de termo quadrático < 0) (**Fig. 7a, 7b e 7e**), enquanto a relação entre altitude e VD teve um ponto mínimo (coeficiente de termo quadrático > 0) (**Fig. 7f**).

L e p foram máximos em 430 m de altitude, com decréscimos significativos em altitudes acima de 1.250 m (**Fig. 7a e 7b**). O SLA foi máximo a 850 m de altitude, aumentando aproximadamente 21% em relação ao nível do mar, e diminuindo significativamente em altitudes mais elevadas (1.863 e 2.174 m, **Fig. 7e**). O VD foi mínimo até 626 m de altitude, aumentando significativamente em altitudes acima de 1.250 m (**Fig. 7f**). SPI e g_{wmax} diminuíram aproximadamente 13 e 31%, respectivamente, considerando um aumento de 1.000 m de altitude (**Fig. 7c e 7d**).

Em geral, as características estomáticas (L , p , SPI e g_{wmax}), SLA e C_i/C_a foram positivamente correlacionadas entre si, mas negativamente correlacionadas com VD, TD e $\delta^{13}C$, que se correlacionaram positivamente entre si. SLA foi positivamente correlacionado com N e $\delta^{15}N$, enquanto os valores de C/N foram negativamente correlacionados com SLA e $\delta^{15}N$, mas positivamente correlacionados com VD (**Fig. 8**).

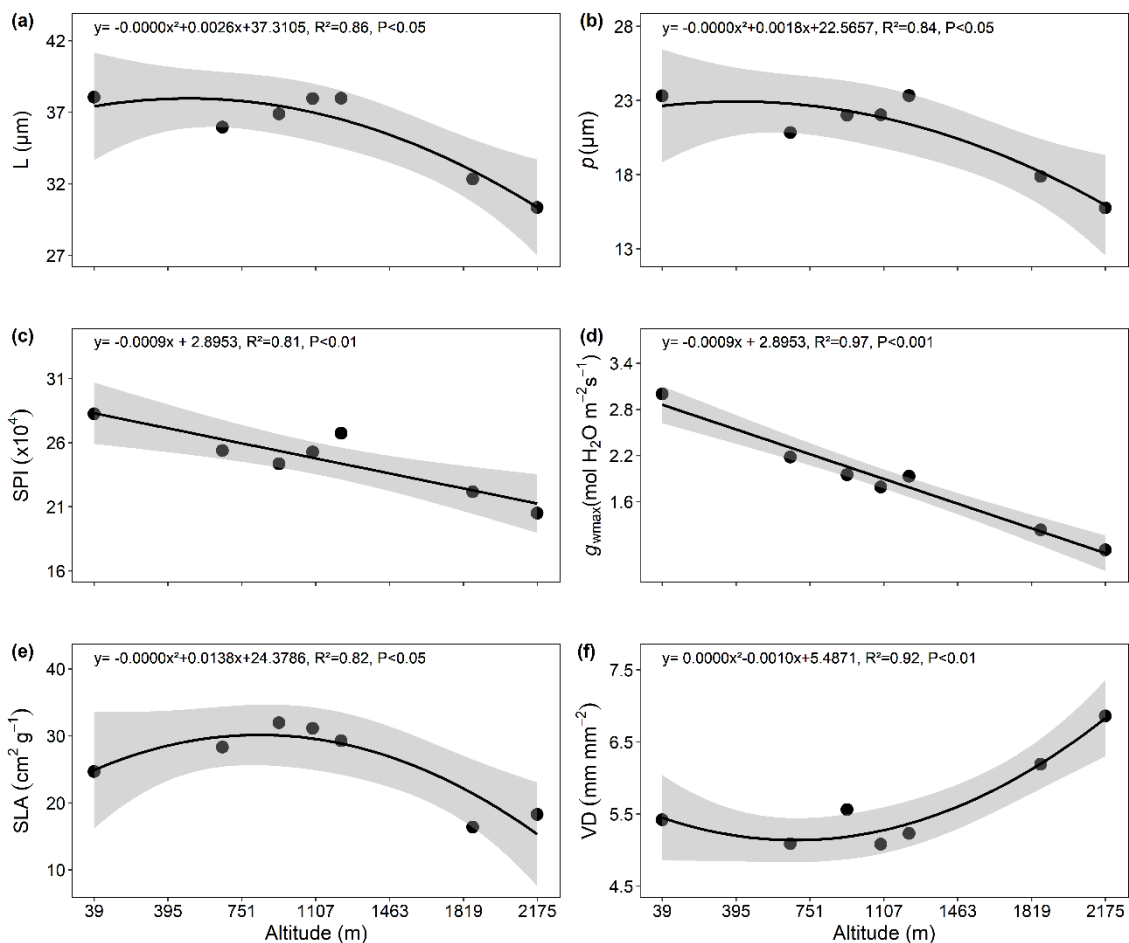


Figura 7. Valores médios populacionais de características estomáticas e foliares de *Myrsine coriacea* em função da altitude na Mata Atlântica. **(a)** comprimento da célula de guarda (L); **(b)** comprimento do poro estomático (p); **(c)** índice de área de poros estomáticos (SPI); **(d)** condutância estomática máxima (g_{wmax}); **(e)** área foliar específica (SLA); **(f)** densidade de venação (VD). A área cinza representa o erro padrão. R^2 é o coeficiente de determinação. P é a significância do modelo de regressão.

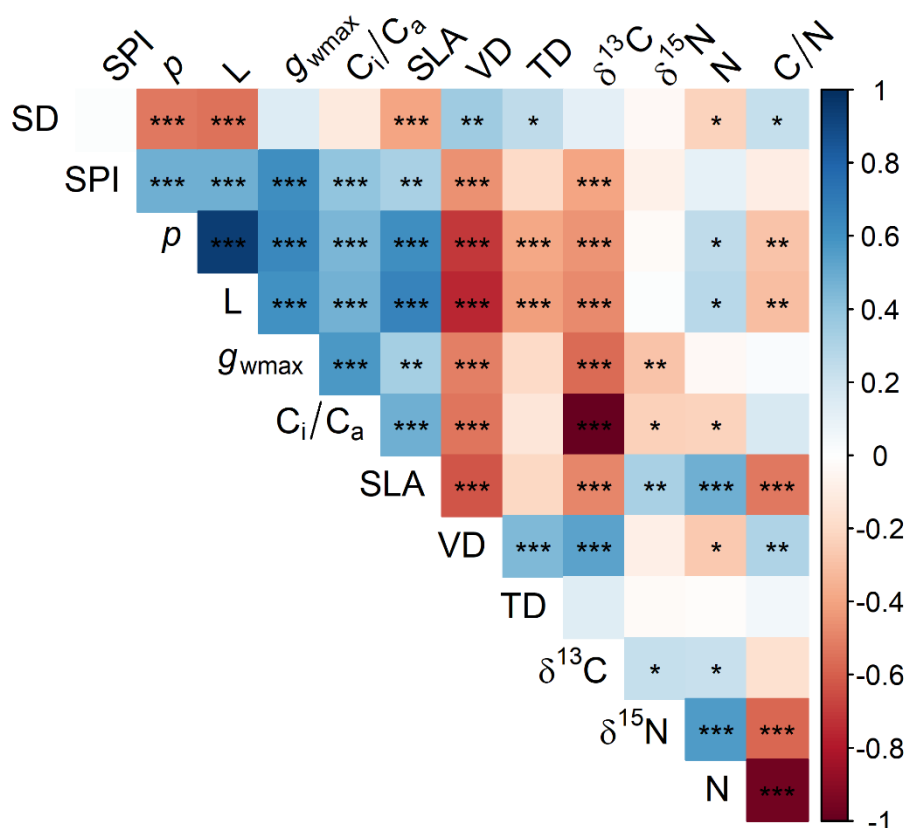


Figura 8. Coeficientes de correlação de Pearson para características estomáticas e morfológicas foliares e composições isotópicas de carbono ($\delta^{13}C$) e nitrogênio ($\delta^{15}N$) avaliadas em sete populações de *Myrsine coriacea* ao longo de um gradiente de altitude na Floresta Atlântica. Baseado nas seguintes características: razão entre a composição foliar de carbono e nitrogênio (C/N); razão entre a concentração interna e ambiente de CO_2 (C_i/C_a); condutância estomática máxima (g_{wmax}); comprimento da célula de guarda (L); concentração foliar de nitrogênio (N); comprimento do poro estomático (p); densidade estomática (SD); área foliar específica (SLA); índice de área de poros estomáticos (SPI); densidade de tricomas (TD); densidade da venação (VD); composição isotópica do carbono foliar ($\delta^{13}C$); composição isotópica do nitrogênio foliar ($\delta^{15}N$). A tonalidade azul representa valores de correlação positivos, enquanto a tonalidade vermelha representa valores negativos. Cores mais escuras indicam valores mais próximos de 1 ou -1. Significância, *** $P \leq 0,001$; ** $P \leq 0,01$, * $P \leq 0,05$. Para siglas, consulte a Tabela 1.

4. DISCUSSÃO

Os efeitos do dimorfismo sexual nas características secundárias de *M. coriacea* ocorreram apenas com características relacionadas à capacidade fotossintética (C_i/C_a , $\delta^{13}C$, N e C/N), sem alterações significativas em características morfológicas foliares e estomáticas. Fêmeas apresentaram maior capacidade fotossintética do que os machos. No geral, a variação nas

características morfológicas e estomáticas ocorreu apenas em função da altitude, o que por sua vez afetou a capacidade fotossintética da espécie em altitudes mais elevadas. Os traços estomáticos e de venação foram mal coordenados. A maior capacidade fotossintética das fêmeas na fase reprodutiva foi associada à força dos drenos. As mudanças nas características das folhas observadas ao longo do gradiente de altitude afetam a capacidade de uso de recursos da espécie, o que pode impactar alguns processos do ecossistema.

A ausência de interação significativa entre os fatores (sexo e altitude) em todas as características analisadas (**Fig. 2a; Tabela 1**), aponta que os efeitos da altitude e do sexo ocorrem de forma independente. O fato dos indivíduos de *M. coriacea* também não apresentarem dimorfismo sexual em nenhuma das características estomáticas e morfológicas foliares (**Tabela 1**), não corrobora com a primeira hipótese do estudo na qual foi postulado que árvores fêmeas, em relação aos machos, deveriam apresentar alterações em características estomáticas com o aumento da altitude, como forma de favorecer a absorção de CO₂ (maior g_{wmax}).

A expressão do dimorfismo sexual em características foliares de espécies dioicas pode ser bastante divergente, pois mostra como os sexos lidam com a heterogeneidade ambiental (FIELD; PICKUP; BARRETT, 2013; HULTINE et al., 2016; LI et al., 2007). A falta de alteração nas características sexuais secundárias é conhecida como “homomorfismo sexual” (JARMAN, 1983), o que torna os sexos de uma espécie neutros em relação às características não reprodutivas que afetam a sobrevivência e a aptidão (MCKOWN et al., 2017; SANDERSON et al., 2019). Descobrimos que *M. coriacea* é homomórfica sexual para características estomáticas e foliares, um padrão já descrito para a árvore temperada *Populus trichocarpa* (MCKOWN et al., 2017). No entanto, este é um padrão incomum, pois a maioria das espécies apresentam diferenças sexuais marcantes. Por exemplo, fêmeas de *Hippophae rhamnoides* tiveram maior SD e SLA do que machos (LI et al., 2007). No entanto, um padrão oposto foi observado para *Honckenya peploides*, com indivíduos machos apresentando maior SD e SLA do que plantas fêmeas (SÁNCHEZ-VILAS; RETUERTO, 2009). Tais diferenças relacionadas ao sexo são específicas da espécie e podem estar relacionadas à história de vida e adaptações ambientais (JUVANY; MUNNÉ-BOSCH, 2015).

O dimorfismo sexual em *M. coriacea* foi observado em características relacionadas à capacidade fotossintética (**Tabela 1**). Além disso, a amostragem foi

realizada no final da fase reprodutiva. Sugerimos que as diferenças encontradas entre plantas machos e fêmeas estejam associadas ao estímulo na maquinaria bioquímica da fotossíntese promovida pelo aumento da força de dreno das fêmeas. Uma possível explicação para isso é que machos podem apresentar maior remobilização de N para suprir a produção de pólen (LI et al., 2007). Isso, por sua vez, leva a uma diminuição do investimento de N para formação da maquinaria fotossintética (OBESO; RETUERTO, 2002), enquanto as fêmeas teriam uma maior demanda por fotoassimilados para suprir o desenvolvimento dos frutos (OBESO; RETUERTO, 2002). Assim, tal aumento na força dos drenos diminui a concentração de amido no tecido foliar devido à maior exportação de sacarose para a produção de frutos, estimulando a fotossíntese (XU et al., 2008), como já descrito para *Populus cathayana* (WU et al., 2021b).

Existe uma estreita relação entre os metabolismos de C e N. A diminuição dos carboidratos das folhas estimula o investimento de N nas proteínas do Ciclo de Calvin, particularmente Rubisco (CORUZZI; ZHOU, 2001; SHI et al., 2006; WANG et al., 2008; ZHU et al., 2010). Folhas com maiores concentrações de N, como visto em árvores fêmeas, geralmente também apresentam maior capacidade de carboxilação (BRESSON et al., 2011; PENG et al., 2016; SEYEDI et al., 2019). O estímulo da fotossíntese foi promovido pelo aumento da força dos drenos, e não foi associado a aumentos significativos na capacidade de absorção de CO₂ pelos estômatos, padrão confirmado pela diminuição de C_i/C_a . Assim, o aumento de $\delta^{13}C$ no tecido foliar de plantas fêmeas (**Fig. 4b**) é devido à diminuição da discriminação isotópica de ¹³CO₂ promovida pela diminuição de C_i/C_a (SHI et al., 2006; WANG et al., 2008; ZHU et al., 2010).

Maior concentração de $\delta^{13}C$, sem alterações nos atributos estomáticos, confere às plantas fêmeas de *M. coriacea* uma maior WUE em comparação aos machos. Isso ocorreu independentemente da altitude, refutando nossa segunda hipótese. No entanto, as diferenças no ganho de carbono entre plantas machos e fêmeas são dependentes da fase fenológica (MILLA et al., 2006). Por exemplo, diferenças na WUE entre machos e fêmeas de *Maireana pyramidata* foram discerníveis apenas durante os períodos reprodutivos (LEIGH; NICOTRA, 2003). Portanto, plantas fêmeas de *M. coriacea* apresentaram maior WUE do que machos na fase reprodutiva avaliada no presente estudo em todas as altitudes. Avaliações

futuras devem testar se esse padrão é mantido durante os períodos de crescimento e floração.

No presente estudo, o tamanho dos estômatos influenciou a condutância estomática, uma vez que tamanhos de poros menores são capazes de fechar e abrir mais rapidamente do que poros de tamanhos maiores. A variação de tamanho (**Fig. 5b**), em resposta ao aumento da altitude, levou a diminuições no SPI (**Fig. 5c**) e g_{wmax} (**Fig. 5d**), demonstrando a capacidade de ajuste da área total dos poros estomáticos associada à conservação e utilização da água (BERTOLINO et al., 2019; DOHENY-ADAMS et al., 2012). Um estudo realizado com *Dodonaea viscosa* em gradientes ambientais no sul da Austrália (HILL et al., 2014) sugeriu que estômatos maiores em altitudes mais baixas (maior temperatura) aumentam a transpiração, favorecendo o resfriamento dos tecidos foliares. Esta é uma possível explicação para o que foi observado para indivíduos da população de *M. coriacea* a 39 m (**Fig. 4a**). Em altitudes mais altas, estômatos menores (L e p ; **Fig. 5a e 5b**) fornecem um caminho de difusão mais curto devido à profundidade dos poros (VIALET-CHABRAND; LAWSON, 2019), o que aumenta a taxa de difusão de CO_2 , levando a economia de água (DASZKOWSKA-GOLEC; SZAREJKO, 2013; RAVEN; HANDLEY; ANDREWS, 2004). As modificações estomáticas associadas ao incremento de VD (**Fig. 6f**) aumentam a capacidade de carboxilação às custas da transpiração (ZHAO et al. 2017a, 2017b). Essa estratégia favorece o estabelecimento de plantas em sistemas com baixa disponibilidade de água no solo em altitudes mais elevadas.

Indivíduos que ocorrem em altitudes mais altas tiveram maior WUE (ou seja, maior $\delta^{13}C$) do que indivíduos em altitudes mais baixas. No entanto, na Floresta Atlântica, o oposto foi encontrado por PIREDA et al. (2019) ao comparar plantas localizadas em uma planície arenosa costeira (restinga) e em uma floresta sazonal. Tais diferenças na eficiência do uso da água encontrada entre os dois, podem ser explicadas por diferenças ambientais entre os locais. A área de restinga na qual se localizava uma das populações estudadas de *M. coriacea* apresenta grande disponibilidade hídrica devido às inundações sazonais. A umidade relativa do solo e do ar (UR) pode ser alta, e o lençol freático pode atingir a superfície do solo (MAGNAGO et al., 2010, 2013). O aumento da UR é desfavorável à transpiração e, quando associado à maior disponibilidade hídrica no solo, faz com que mesmo com a ocorrência da perda de água, ela não seja considerada um fator limitante

para os processos fotossintéticos. Esta é uma possível explicação para o baixo investimento em VD aqui observado para *M. coriacea* em baixas altitudes (**Tabela 2; Fig. 5f**), contrariando os resultados encontrados por PIREDA et al. (2019).

A variação nas características estomáticas e VD foram mínimas entre as populações de até 1.229 m (**Tabela 2; Fig. 5**). Destacamos ainda que os decréscimos observados na g_{wmax} (**Tabela 2 e Fig. 5d**) entre essas populações não foram resultantes de ajustes anatômicos (L ou p), e sim do efeito da variação nos valores do coeficiente de difusão do vapor de água no ar (dw) e do volume molar do ar (v), estimados ao longo do gradiente de altitude. Como as mudanças na morfologia são irreversíveis, elas devem ocorrer de forma coordenada para ganhos de desempenho (KOOKE; KEURENTJES, 2012; BRODRIBB et al., 2017; ZHAO et al., 2017), isso seria expresso por uma relação positiva entre g_{wmax} e VD, o que não foi observado. Nossa terceira hipótese foi parcialmente confirmada pela correlação positiva entre SD e VD (**Fig. 6**). Não observamos coordenação entre os sistemas que regulam entrada e saída água, ou seja, aqueles relacionados ao xilema e aos estômatos, respectivamente (ver, ZHAO et al., 2016; BRODRIBB et al., 2017). Isso se deve à correlação relativamente baixa ($r=0,36$) entre SD e VD e à ausência de diferenças significativas de SD ao longo do gradiente (**Tabelas 2 e 3**). ZHAO et al. (2016), estudando 105 espécies de angiospermas em um gradiente de altitude entre 800 e 2.600 m no sudoeste da China, não encontraram associações positivas entre SD e VD. Uma relação diretamente proporcional entre SD e VD seria fundamental para manter em equilíbrio os fluxos de água nas fases líquida e gasosa (BRODRIBB et al. 2017, ZHAO et al. 2017). Encontramos evidências que apoiam a hipótese de DAMIÁN et al. (2017) em que as plantas mudam seus padrões de características para lidar com condições ambientais heterogêneas de acordo a prioridade fisiológica.

No geral, houve uma relação inversamente proporcional entre as características estomáticas (L , p e SPI) e VD (**Fig. 6**). Por um lado, os grandes investimentos em VD associados a estômatos pequenos (L e p) e baixos valores de SLA (**Tabela 2; Fig. 5g, 5b, 5a e 5f**), podem ser interpretados como excesso de venação e, portanto, como estratégia ineficiente. Isso levaria a um aumento no consumo de fotoassimilados devido ao grande custo metabólico para a síntese de lignina, que é o principal componente da venação foliar (LAMBERS; POORTER 1992). Esses grandes investimentos em VD limitariam o potencial fotossintético

porque exigiriam que a planta investisse em tecido vascular em detrimento do investimento em tecido fotossintético (CARINS MURPHY; JORDAN; BRODRIBB, 2014). Além do mais, folhas mais grossas (menor SLA) embora associadas com maior longevidade (VITÓRIA; ALVES; SANTIAGO, 2019; WRIGHT et al., 2004), apresentam menores valores de condutância hidráulica foliar (K_{leaf}) e, conseqüentemente, menor g_s , apresentando menor capacidade fotossintética (BRODRIBB; FEILD; JORDAN, 2007). Entretanto, o aumento dos investimentos em VD em folhas com menor SLA pode diminuir a distância entre a nervura e a epiderme (estômatos), reestabelecendo os valores de K_{leaf} e g_s , e, conseqüentemente, a capacidade fotossintética (SACK; SCOFFONI, 2013; SCOFFONI et al., 2011). A maior VD em espécies de *Eucalyptus* e *Corymbia localizadas* ao longo de um gradiente de disponibilidade hídrica no sudoeste da Austrália, além de diminuir o risco de falha hidráulica, também foi associada com a mitigação do efeito negativo da maior espessura foliar sobre a fotossíntese (BOER et al., 2016). Assim, a aparente ineficiência da estratégia não deve ser interpretada como tal, pois aumentos no VD atenuam os efeitos do baixo SLA. A complexidade de ecossistemas altamente heterogêneos e multidimensionais, especialmente em florestas tropicais (ver, MARQUES; GRELE, 2021), exigem que as plantas forneçam várias combinações de características para ajustar às mudanças ambientais e melhorar o desempenho. Essa capacidade das plantas de ajustar diferencialmente o funcionamento entre os diferentes conjuntos de características, é de importância crucial em um clima global em constante mudança.

A diminuição do tamanho dos estômatos geralmente está associada ao aumento do SD (ver, ZWIENIECKI et al., 2016). No entanto, encontramos diminuição no tamanho dos estômatos (L , p e SPI) e aumento nos valores de TD (**Fig. 6**), com valores de SD invariantes ao longo do gradiente. Os aumentos na TD explicam as diminuições no tamanho dos estômatos e de VD observados em 1.863 e 2.174 m (**Tabela 2**). Isto ocorreu principalmente para a população de 2.174 m, na qual foram observados dois tipos exclusivos de tricomas (**Fig. 4f**). O aumento no número de tricomas são comumente vistos como características xeromórficas (GALDON-ARMERO et al., 2018; GALMÉS et al., 2007; TALEBI et al., 2019) e podem estar associados a baixos valores de SD e baixos valores de g_s (GALDON-ARMERO et al., 2018). O aumento de tricomas está associada à diminuição da perda de água, proteção contra excesso de radiação UV e prevenção de

superaquecimento em plantas de alta altitude (GALDON-ARMERO et al., 2018; GALMÉS et al., 2007; SMITH et al., 2009). Sugerimos que pressões seletivas paralelas (BOER et al., 2016), que geralmente estão presentes em altitudes mais altas (KÖRNER, 2007), podem explicar o padrão encontrado de baixo SLA associado ao aumento da TD e o aparente superinvestimento em venação foliar.

As mudanças nos atributos foliares observadas ao longo do gradiente podem afetar alguns processos do ecossistema, mesmo após a senescência foliar. Períodos mais longos são esperados para a decomposição de folhas de *M. coriacea* em altitudes mais elevadas devido ao seu baixo SLA e maiores valores de VD e TD (**Fig. 5**), quando comparados com plantas de altitudes mais baixas (LAVOREL; GARNIER, 2002; POORTER et al., 2009). Embora isso afete a ciclagem de nutrientes (CORNELISSEN et al., 1999), o tamanho desse efeito é dependente das concentrações de N nas folhas, capacidade de remobilização de nutrientes na senescência e proporção de folhas de *M. coriacea* na serapilheira.

Em geral, as taxas de mineralização da matéria orgânica em serapilheira diminuem com a altitude devido às baixas temperaturas, levando à diminuição da disponibilidade de nutrientes do solo (RAZAVI; BLAGODATSKAYA; KUZYAKOV, 2015). Assim, ocorre um aumento na disponibilidade de formas orgânicas de N, com maiores concentrações de ^{15}N (CRAINE et al., 2015; HOBBIE; HÖGBERG, 2012) e que são acessados através de fungos micorrízicos (HOBBIE; HÖGBERG, 2012; HÖGBERG, 1997) e bactérias fixadoras de nitrogênio (KRIEG et al., 2017). Em altitudes mais baixas, ao contrário, há uma diminuição na diversidade de espécies e abundância de microrganismos do solo (BONFIM et al., 2016; GAVAZOV et al., 2016), devido aos menores teores de matéria orgânica, fósforo e alumínio encontrados neste ambiente (BAINARD et al., 2014). Encontramos menores valores de ^{15}N foliar nas populações de 39 e 657 m, mas com teores de N semelhantes, em comparação com as populações de maior altitude (**Tabela 2; Fig. 7**). Isso pode ser devido a uma diminuição nas associações planta-microrganismo em baixas altitudes, associadas a maiores concentrações de $\delta^{15}\text{N}$ no solo geralmente encontrada em solos tropicais e temperados (MARTINELLI et al., 1999). Estudos futuros devem considerar a capacidade de remobilização de N, a existência e importância de associações planta-microrganismo em plantas de *M. coriacea*.

5. CONCLUSÃO

Machos e fêmeas de *M. coriacea* não diferiram nos atributos estomáticos. Fêmeas tiveram maior capacidade de carboxilação devido ao aumento da força de dreno e N foliar. Assim como também apresentaram maior eficiência no uso da água (maior $\delta^{13}\text{C}$) em relação aos machos. Todos esses padrões eram evidentes apesar das mudanças de altitude.

Indivíduos machos e fêmeas de *M. coriacea* apresentaram alterações nas características estomáticas, como diminuição do tamanho estomático e $g_{w\max}$, levando a aumentos no WUE. Todas essas mudanças estão associadas a mudanças ambientais em todo o gradiente de altitude, e permitem que as espécies prosperem em climas globais diversos e em constante mudança.

Os atributos das folhas em altitudes mais elevadas foram associados a maiores períodos de decomposição. Os menores valores de $\delta^{15}\text{N}$ foliar para populações de até 657 m sugerem a ação de associações planta-microrganismo sobre o N orgânico, tema que merece futuras linhas de investigação. É importante ressaltar que, foram encontradas evidências indicando que mudanças nos atributos das folhas ao longo do gradiente podem afetar alguns processos importantes do ecossistema.

A coordenação funcional entre os traços estomáticos e venosos não foi encontrada. Em vez disso, VD foi inversamente relacionado com características estomáticas e SLA. Além disso, a diminuição do tamanho dos estômatos foi associada ao aumento da TD. Concluímos que pressões seletivas paralelas, que geralmente estão presentes em altitudes mais elevadas, podem explicar o aparente superinvestimento em nervuras foliares.

6. REFERÊNCIAS

AGRITEMPO (2018). Sistema de Monitoramento Agrometeorológico, visualizado em 20 de dezembro de 2018, <<http://www.agritempo.gov.br/agritempo/index.jsp>>

ANDERSON, Marti J.; WILLIS, Trevor J. Canonical analysis of principal coordinates: A useful method of constrained ordination for ecology. *Ecology*, v. 84, n. 2, p. 511–525, 2003.

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

ANDERSON, Marti J. Distance-Based Tests for Homogeneity of Multivariate Dispersions. *Biometrics*, v. 62, p. 245–253, 2006.

ANDERSON, Marti Jane; ROBINSON, John. Generalized discriminant analysis based on distances. *Australian and New Zealand Journal of Statistics*, v. 45, n. 3, p. 301–318, 2003.

BAINARD, Luke D. *et al.* Spatial and temporal structuring of arbuscular mycorrhizal communities is differentially influenced by abiotic factors and host crop in a semi-arid prairie agroecosystem. *FEMS Microbiology Ecology*, v. 88, n. 2, p. 333–344, 2014.

BARRETT, Spencer C.H.; JOSH, Hough. Sexual dimorphism in flowering plants. *Journal of Experimental Botany*, v. 64, n. 1, p. 67–82, 2013.

BERTOLINO, Lígia T *et al.* Impact of Stomatal Density and Morphology on Water-Use Efficiency in a Changing World. *Frontiers in Plant Science*, v. 10, n. March, p. 1–13, 2019.

BOER, Hugo J De *et al.* Optimal allocation of leaf epidermal area for gas exchange. *New Phytologist*, v. 210, p. 1219–1228, 2016.

BONFIM, Joice Andrade *et al.* Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in a Brazilian Atlantic Forest Toposequence. *Microbial Ecology*, v. 71, n. 1, p. 164–177, 2016.

BRESSON, Caroline C. *et al.* To what extent is altitudinal variation of functional traits driven by genetic adaptation in European oak and beech? *Tree Physiology*, v. 31, n. 11, p. 1164–1174, 2011.

BRODRIBB, Tim J.; FEILD, Taylor S.; JORDAN, Gregory J. Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiology*, v. 144, n. 4, p. 1890–1898, 2007.

BRODRIBB, Timothy J; MCADAM, Scott A.M.; CARINS MURPHY, Madeline R. Xylem and stomata, coordinated through time and space. *Plant Cell and Environment*, v. 40, n. 6, p. 872–880, 2017.

BUCHER, Solveig Franziska *et al.* Inter- and intraspecific variation in stomatal pore

area index along elevational gradients and its relation to leaf functional traits. *Plant Ecology*, v. 217, n. 3, p. 229–240, 2016.

CALDERA, H. Iroja U. *et al.* Effects of elevated carbon dioxide on stomatal characteristics and carbon isotope ratio of *Arabidopsis thaliana* ecotypes originating from an altitudinal gradient. *Physiologia Plantarum*, v. 159, n. 1, p. 74–92, 2017.

CARINS MURPHY, Madeline R.; JORDAN, Gregory J.; BRODRIBB, Timothy J. Acclimation to humidity modifies the link between leaf size and the density of veins and stomata. *Plant, Cell and Environment*, v. 37, n. 1, p. 124–131, 2014.

CARRIJO, Tatiana T. *et al.* Flora do Espírito santo: Primulaceae. *Rodriguesia*, v. 68, n. 5, p. 1829–1856, 2017.

CAVATTE, Paulo C. *et al.* Could shading reduce the negative impacts of drought on coffee? A morphophysiological analysis. *Physiologia Plantarum*, v. 144, n. 2, p. 111–122, 2012.

CORLETT, Richard T.; WESTCOTT, David A. Will plant movements keep up with climate change? *Trends in Ecology and Evolution*, v. 28, n. 8, p. 482–488, 2013..

CORNELISSEN, Johannes H.C. *et al.* Leaf structure and defence control litter decomposition rate across species and life forms in regional floras on two continents. *New Phytologist*, v. 143, n. 1, p. 191–200, 1999.

CORUZZI, Gloria M.; ZHOU, Li. Carbon and nitrogen sensing and signaling in plants: Emerging “matrix effects”. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 4, n. 3, p. 247–253, 2001.

CRAINE, Joseph M. *et al.* Ecological interpretations of nitrogen isotope ratios of terrestrial plants and soils. *Plant and Soil*, v. 396, n. 1–2, p. 1–26, 2015.

DAMIÁN, Xóchitl *et al.* Ontogenetic changes in the phenotypic integration and modularity of leaf functional traits. *Functional Ecology*, v. 32, n. 2, p. 234–246, 2017.

DASZKOWSKA-GOLEC, Agata; SZAREJKO, Iwona. Open or close the gate - Stomata action under the control of phytohormones in drought stress conditions. *Frontiers in Plant Science*, v. 4, n. MAY, p. 1–17, 2013.

DAWSON, T. E.; WARD, J. K.; EHLERINGER, J. R. Temporal scaling of physiological responses from gas exchange to tree rings: A gender-specific study of *Acer negundo* (Boxelder) growing under different conditions. *Functional Ecology*, v. 18, n. 2, p. 212–222, 2004.

DAWSON, T. E.; GEBER, M. A. Dimorphism in Physiology and Morphology. In: GEBER, M. A.; DAWSON, T. E.; DELPH, L.F (Org.). . *Gender and Sexual Dimorphism in Flowering Plants*. Berlin Heidelberg: Springer-V, p. 175-216, 1999.

DAWSON, Todd E *et al.* Stable isotopes in plant ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, v. 33, p. 507–559, 2002.

- DEKKER, Stefan C. *et al.* Optimal allocation of leaf epidermal area for gas exchange. *New Phytologist*, v. 210, n. 4, p. 1219–1228, 2016.
- DOHENY-ADAMS, Timothy *et al.* Genetic manipulation of stomatal density influences stomatal size, plant growth and tolerance to restricted water supply across a growth carbon dioxide gradient. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, v. 367, n. 1588, p. 547–555, 2012.
- ESSER, Luíz Fernando; NEVES, Danilo M.; JARENKOW, João André. Habitat-specific impacts of climate change in the Mata Atlântica biodiversity hotspot. *Diversity and Distributions*, v. 25, n. 12, p. 1846–1856, 2019.
- FARQUHAR, Graham D; EHLERINGER, J R; HUBICK, K T. Carbon Isotope Discrimination and Photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, v. 40, n. 1, p. 503–537, 1989.
- FARQUHAR, Graham D; SHARKEY, Thomas D. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, v. 33, p. 317–345, 1982.
- FIELD, David L; PICKUP, Melinda; BARRETT, Spencer C H. Ecological context and metapopulation dynamics affect sex-ratio variation among dioecious plant populations. p. 917–923, 2013.
- FRANKS, Peter J *et al.* Stomatal Function across Temporal and Spatial Scales : Deep-Time Trends , Land-Atmosphere Coupling and Global Models. *Plant Physiology*. v. 174, p. 583–602, 2017.
- GALDON-ARMERO, Javier *et al.* The ratio of trichomes to stomata is associated with water use efficiency in *Solanum lycopersicum* (tomato). *The Plant Journal*, v. 96, n. 3, p. 607–619, 2018.
- GALE, J. Availability of Carbon Dioxide for Photosynthesis at High Altitudes: Theoretical Considerations. *Ecology*, v. 53, n. 3, p. 494–497, 1972.
- GALMÉS, Jeroni *et al.* Photoprotection processes under water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms and leaf habits. *Physiologia Plantarum*, v. 130, n. 4, p. 495–510, 2007.
- GAVAZOV, Konstantin *et al.* Environmental drivers of carbon and nitrogen isotopic signatures in peatland vascular plants along an altitude gradient. *Oecologia*, v. 180, n. 1, p. 257–264, 2016.
- HARRELL JR, Frank E. *Hmisc: Harrell Miscellaneous. R package version 4.4-2.* <https://CRAN.R-project.org/package=Hmisc>. [S.l: s.n.]. , 2020
- HETHERINGTON, Alistair M.; WOODWARD, F. Ian. The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*, v. 424, n. August, p. 901–908, 2003.
- HILL, Kathryn E. *et al.* Temperature influences stomatal density and maximum potential water loss through stomata of *Dodonaea viscosa* subsp. *angustissima*

along a latitude gradient in southern Australia. *Australian Journal of Botany*, v. 62, n. 8, p. 657–665, 2014.

HOBBIE, Erik A.; HÖGBERG, Peter. Nitrogen isotopes link mycorrhizal fungi and plants to nitrogen dynamics. *New Phytologist*, v. 196, n. 2, p. 367–382, 2012.

HÖGBERG, Peter. Tansley review no. 95 natural abundance in soil-plant systems. *New Phytologist*, v. 137, n. 2, p. 179–203, 1997.

HULTINE, Kevin R *et al.* Climate change perils for dioecious plant species. *Nature Plants*, v. 2, n. 8, p. 1–8, 2016.

JARMAN, P. Mating system and sexual dimorphism in large, terrestrial, mammalian herbivores. *Biological Reviews*, v. 58, n. 4, p. 485–520, 1983.

JOHANSEN, D. A. Plant microtechnique. *New York: Mcgraw-Hill*, 1940.

JOLY, Carlos A.; METZGER, Jean Paul; TABARELLI, Marcelo. Experiences from the Brazilian Atlantic Forest: Ecological findings and conservation initiatives. *New Phytologist*, v. 204, n. 3, p. 459–473, 2014.

JUVANY, Marta; MUNNÉ-BOSCH, Sergi. Sex-related differences in stress tolerance in dioecious plants: A critical appraisal in a physiological context. *Journal of Experimental Botany*, v. 66, n. 20, p. 6083–6092, 2015.

KAISER, E. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine. *Botanische Zentralblatt*, v. 180, p. 25–26, 1880.

KOOKE, R.; KEURENTJES, J. J.B. Multi-dimensional regulation of metabolic networks shaping plant development and performance. *Journal of Experimental Botany*, v. 63, n. 9, p. 3353–3365, 2012.

KÖRNER, Christian. The use of “altitude” in ecological research. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 22, n. 11, p. 569–574, 2007.

KOUWENBERG, Lenny *et al.* Atmospheric CO₂ fluctuations during the last millennium reconstructed by stomatal frequency analysis of *Tsuga heterophylla* needles. *Geology*, v. 33, n. 1, p. 33–36, 2005.

KRIEG, Christopher *et al.* Sex-specific differences in functional traits and resource acquisition in five cycad species. *AoB PLANTS*, v. 9, n. 2, 2017.

LABOURIAU, LG; OLIVEIRA, JG; SALGADO-LABOURIAU, ML. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Toledo. I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais, Brasil. *An Acad Bras Ciênc*, v. 33, n. 237–257, p. 1961, 1961.

LAMBERS, Hans; POORTER, Hendrik. Inherent Variation in Growth Rate Between Higher Plants: A Search for Physiological Causes and Ecological Consequences. *Advances in Ecological Research*, v. 23, n. C, p. 187–261, 1992.

LAVOREL, S.; GARNIER, E. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: Revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology*, v. 16, n. 5, p. 545–556, 2002.

LEGENBRE, R AND LEGENBRE, L. *Numerical Ecology*. Amsterdam:Elsevier, 2012.

LEIGH, Andrea; NICOTRA, Adrienne B. Sexual dimorphism in reproductive allocation and water use efficiency in *Maireana pyramidata* (Chenopodiaceae), a dioecious, semi-arid shrub. *Australian Journal of Botany*, v. 51, n. 5, p. 509–514, 2003.

LEUSCHNER, Christoph. Are high elevations in tropical mountains arid environments for plants? *Ecology*, v. 81, n. 5, p. 1425–1436, 2000.

LI, Chunyang *et al.* Sex-related differences in leaf morphological and physiological responses in *Hippophae rhamnoides* along an altitudinal gradient. *Tree Physiology*, v. 27, n. 3, p. 399–406, 2007.

LIU, Congcong *et al.* Variation of stomatal traits from cold temperate to tropical forests and association with water use efficiency. *Functional Ecology*, v. 32, n. 1, p. 20–28, 2018.

MAGNAGO, Luiz Fernando Silva *et al.* Gradiente fitofisionômico-edáfico em formações florestais de Restinga no Sudeste do Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 24, n. 3, p. 734–746, 2010.

MAGNAGO, Luiz Fernando Silva *et al.* Structure and diversity of restingas along a flood gradient in southeastern Brazil. *Acta Botanica Brasilica*, v. 27, n. 4, p. 801–809, 2013.

MARQUES, Márcia C.M.; GRELLE, Carlos Eduardo Viveiros. *The Atlantic Forest History, Biodiversity, Threats and Opportunities of the Mega-diverse Forest*. Berlin Heidelberg: Springer, 2021.

MARTINELLI, L A *et al.* Nitrogen stable isotopic composition of leaves and soil: Tropical versus temperate forest. *Biogeochemistry*, v. 46, p. 45–65, 1999.

MARTINS, Samuel C V *et al.* Understanding the Low Photosynthetic Rates of Sun and Shade Coffee Leaves : Bridging the Gap on the Relative Roles of Hydraulic , Diffusive and Biochemical Constraints to Photosynthesis. *PLoS ONE*, v. 9, n. 4, p. 1–10, 2014.

MATALLANA, Gloria *et al.* High abundance of dioecious plants in a tropical coastal vegetation. *American Journal of Botany*, v. 92, n. 9, p. 1513–1519, 2005.

MCCAIN, Christy M; GRYTNES, John-Arvid. Elevational Gradients in Species Richness. *Encyclopedia of Life Sciences*, p. 1–10, 2010.

MCELWAIN, Jennifer C; YIOTIS, Charilaos; LAWSON, Tracy. Using modern plant

trait relationships between observed and theoretical maximum stomatal conductance and vein density to examine patterns of plant macroevolution. *New Phytologist*, v. 209, p. 94–103, 2016.

MCKOWN, Athena D. *et al.* Sexual homomorphism in dioecious trees: Extensive tests fail to detect sexual dimorphism in *Populus*. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 1–14, 2017.

MELNIKOVA, Nataliya V. *et al.* Sex-specific response to stress in populus. *Frontiers in Plant Science*, v. 8, n. October, p. 1–6, 2017.

MILLA, R. *et al.* Costs of reproduction as related to the timing of phenological phases in the dioecious shrub *Pistacia lentiscus* L. *Plant Biology*, v. 8, n. 1, p. 103–111, 2006.

MUNNÉ-BOSCH, Sergi. Sex ratios in dioecious plants in the framework of global change. *Environmental and Experimental Botany*, v. 109, p. 99–102, 2015.

OBESO, José Ramón; RETUERTO, Rubén. Dimorfismo sexual en el acebo, *Ilex aquifolium*: ¿coste de la reproducción, selección sexual o diferenciación fisiológica? *Sexual*. *Revista Chilena de Historia Natural*, v. 75, n. 1, p. 67–77, 2002.

OKSANEN, Jari *et al.* *Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-7*. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>, 2020

PENG, Yunfeng *et al.* Pre- and post-silking carbohydrate concentrations in maize ear-leaves and developing ears in response to nitrogen availability. *Crop Science*, v. 56, n. 6, p. 3218–3227, 2016.

PETRY, William K. *et al.* Sex-specific responses to climate change in plants alter population sex ratio and performance. *Science*, v. 353, n. 6294, p. 69–71, 2016.

PIREDA, Saulo *et al.* Acclimatization capacity of leaf traits of species co-occurring in restinga and seasonal semideciduous forest ecosystems. *Environmental and Experimental Botany*, v. 164, n. May, p. 190–202, 2019.

POORTER, Hendrik *et al.* Causes and consequences of variation in leaf mass per area (LMA): A meta-analysis. *New Phytologist*, v. 182, n. 3, p. 565–588, 2009.

QI, Xingyun; TORII, Keiko U. Hormonal and environmental signals guiding stomatal development. *BMC Biology*, p. 16–21, 2018.

RAVEN, John A; HANDLEY, Linda L; ANDREWS, Mitchell. Global aspects of C / N interactions determining plant - environment interactions. *Journal of Experimental Botany*, v. 55, n. 394, p. 11–25, 2004.

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, n. OCT, p. 1–13, 2015.

RÉJOU-MÉCHAIN, Maxime; CHEPTOU, Pierre Olivier. High incidence of dioecy in

young successional tropical forests. *Journal of Ecology*, v. 103, n. 3, p. 725–732, 2015.

RENNER, Susanne S.; RICKLEFS, Robert E. Dioecy and its correlates in the flowering plants. *American Journal of Botany*, v. 82, n. 5, p. 596–606, 1995.

RETUERTO, Rubén; VILAS, Sanchez; JULIA AND VARGA, Sandra. Sexual dimorphism in response to stress. *Environmental and Experimental Botany*, v. 146, p. 1–4, 2018.

ROSADO-SOUZA, Laise *et al.* Exploring natural variation of photosynthetic, primary metabolism and growth parameters in a large panel of *Capsicum chinense* accessions. *Planta*, v. 242, n. 3, p. 677–691, 2015.

ROSADO, Bruno H.P. *et al.* Diversity in nighttime transpiration behavior of woody species of the Atlantic Rain Forest, Brazil. *Agricultural and Forest Meteorology*, v. 158–159, p. 13–20, 2012.

SACK, L *et al.* The ‘ hydrology ’ of leaves : co-ordination of structure and function in temperate woody species. *Plant, Cell and Environment*, v. 26, p. 1343–1356, 2003.

SACK, Lawren; BUCKLEY, Thomas N. The developmental basis of stomatal density and flux. *Plant Physiology*, v. 171, n. 4, p. 2358–2363, 2016.

SACK, Lawren; SCOFFONI, Christine. Tansley review Leaf venation : structure, function, developmen , evolution, ecology and applications in the past, present and future. *New Phytologist*, v. 198, p. 983–1000, 2013.

SÁNCHEZ-TAPIA, Andrea *et al.* Environmental and geographical space partitioning between core and peripheral Myrsine species (Primulaceae) of the Brazilian Atlantic Forest. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v. 187, n. 4, p. 633–652, 2018.

SÁNCHEZ-VILAS, J.; RETUERTO, R. Sex-specific physiological, allocation and growth responses to water availability in the subdioecious plant *Honckenya peploides*. *Plant Biology*, v. 11, n. 2, p. 243–254, 2009.

SANDERSON, Brian J. *et al.* Sex-biased gene expression in flowers, but not leaves, reveals secondary sexual dimorphism in *Populus balsamifera*. *New Phytologist*, v. 221, n. 1, p. 527–539, 2019.

SCOFFONI, Christine *et al.* Decline of leaf hydraulic conductance with dehydration: Relationship to leaf size and venation architecture. *Plant Physiology*, v. 156, n. 2, p. 832–843, 2011.

SEYEDI, Nasrin *et al.* The contribution of leaf life span to sexual dimorphism in deciduous and evergreen *Pistacia* species under Mediterranean conditions. *Flora: Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, v. 251, p. 114–121, 2019.

SHI, Zuomin *et al.* Altitudinal variation in photosynthetic capacity, diffusional conductance and $\delta^{13}\text{C}$ of butterfly bush (*Buddleja davidii*) plants growing at high

elevations. *Physiologia Plantarum*, v. 128, n. 4, p. 722–731, 2006.

SHI, Zuomin *et al.* Growth habit and leaf economics determine gas exchange responses to high elevation in an evergreen tree, a deciduous shrub and a herbaceous annual. *AoB Plants*, v. 7, p. plv115, 2015.

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

STROMME, Christian B. *et al.* The dioecious *Populus tremula* displays interactive effects of temperature and ultraviolet-B along a natural gradient. *Environmental and Experimental Botany*, v. 146, n. October 2017, p. 13–26, 2018.

TALEBI, Seyed Mehdi *et al.* Effect of altitude on essential oil composition and on glandular trichome density in three *Nepeta* species (*N. Sessilifolia*, *N. Heliotropifolia* and *N. Fissa*). *Mediterranean Botany*, v. 40, n. 1, p. 81–93, 2019.

TOGNETTI, Roberto. Adaptation to climate change of dioecious plants: Does gender balance matter? *Tree Physiology*, v. 32, n. 11, p. 1321–1324, 2012.

VIALET-CHABRAND, Silvere; LAWSON, Tracy. Dynamic leaf energy balance: deriving stomatal conductance from thermal imaging in a dynamic environment. *Journal of experimental botany*, v. 70, n. 10, p. 2839–2855, 2019.

VITÓRIA, Angela Pierre; ALVES, Luciana F.; SANTIAGO, Louis S. Atlantic forest and leaf traits: an overview. *Trees - Structure and Function*, v. 33, p. 1535–1574, 2019.

WANG, Guoan *et al.* Experimental measurements of leaf carbon isotope discrimination and gas exchange in the progenies of *Plantago depressa* and *Setaria viridis* collected from a wide altitudinal range. *Physiologia Plantarum*, v. 134, n. 1, p. 64–73, 2008.

WANG, Han *et al.* Photosynthetic responses to altitude: an explanation based on optimality principles. *New Phytologist*, v. 213, n. 3, p. 976–982, 2017.

WARTON, David I.; WRIGHT, Stephen T.; WANG, Yi. Distance-based multivariate analyses confound location and dispersion effects. *Methods in Ecology and Evolution*, v. 3, n. 1, p. 89–101, 2012.

WEI, Taiyun *et al.* *Corrplot: Visualization of Correlation Matrix*. R package version 0.84. <https://CRAN.R-project.org/package=corrplot>, 2017

WICKHAM, Hadley *et al.* *ggplot2: Create Elegant Data Visualisations Using the Grammar of Graphics*. R package version 3.3.3. <https://CRAN.R-project.org/package=ggplot2>, 2020

WILKE, Claus O. *cowplot: Streamlined Plot Theme and Plot Annotations for “ggplot2”*. R package version 1.1.1. <https://CRAN.R-project.org/package=cowplot>, 2020

WRIGHT, Ian J *et al.* Worldwide leaf economic spectrum. *Nature*, v. 8, n. 4, p. 153–162, 2004.

WU, Jiamei *et al.* Photosynthetic capacity of male and female *Hippophae rhamnoides* plants along an elevation gradient in eastern Qinghai-Tibetan Plateau, China. *Tree Physiology*, v. 41, p. 76–88, 2021.

WU, Xiaoyi *et al.* Differences in carbon and nitrogen metabolism between male and female *Populus cathayana* in response to deficient nitrogen. *Tree Physiology*, v. 41, n. 1, p. 119–133, 2021.

XU, Xiao *et al.* Drought inhibits photosynthetic capacity more in females than in males of *Populus cathayana*. *Tree Physiology*, v. 28, n. 11, p. 1751–1759, 2008.

XU, Zhenzhu; ZHOU, Guangsheng. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. *Journal of Experimental Botany*, v. 59, n. 12, p. 3317–3325, 2008.

YADUGIRI, VT. Climate change: the role of plant physiology. *Current Science*, v. 99, p. 423–425, 2010.

ZHAO, Manchun *et al.* Association between water and carbon dioxide transport in leaf plasma membranes: assessing the role of aquaporins. *Plant Cell and Environment*, v. 40, n. 6, p. 789–801, 2017.

ZHAO, Wan Li *et al.* Stable stomatal number per minor vein length indicates the coordination between leaf water supply and demand in three leguminous species. *Scientific Reports*, v. 7, n. 1, p. 1–11, 2017.

ZHAO, Wan Li *et al.* Weak co-ordination between vein and stomatal densities in 105 angiosperm tree species along altitudinal gradients in Southwest China. *Functional Plant Biology*, v. 43, n. 12, p. 1126–1133, 2016.

ZHAO, Yong *et al.* The adaptation strategies of *Herpetospermum pedunculatum* (Ser.) Baill at altitude gradient of the Tibetan plateau by physiological and metabolomic methods. *BMC Genomics*, v. 20, n. 1, p. 1–15, 2019.

ZHU, Yuan *et al.* Phylogenetically balanced evidence for structural and carbon isotope responses in plants along elevational gradients. *Oecologia*, v. 162, n. 4, p. 853–863, 2010.

ZWIENIECKI, Maciej A. *et al.* Stomatal design principles in synthetic and real leaves. *Journal of the Royal Society Interface*, v. 13, n. 124, p. 20160535, 2016.

CAPÍTULO 2 - Como as mudanças climáticas poderão afetar a fotossíntese líquida de espécies arbóreas da Floresta Atlântica? Respostas utilizando experimentos em jardins comum e uma espécie de ampla distribuição

Autores: PEREIRA, J.P.^{1,2} • MOREIRA, V.F.M.^{1,2} • DA SILVA, A.T.² • DA SILVA, J. A.^{2,3} • LUBER, J.² • GARBIN, M.L.² • CARRIJO, T.T.² • CAVATTE, P.C.^{1,2}

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Centro de Ciências Humanas e Naturais, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, Brasil

² Laboratório de Botânica, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde, Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, ES, Brasil

³ Instituto Capixaba de Pesquisa, Assistência Técnica e Extensão Rural, Fazenda Experimental de Bananal do Norte, Cachoeiro de Itapemirim, ES, Brasil

Periódico a ser submetido: "*Tree Physiology*"

RESUMO

Em um cenário de mudanças climáticas, buscar compreender os fatores que regulam as diferenças e a capacidade adaptativa das espécies é fundamental para entender como as espécies responderão ao aumento de temperatura. Assim, o principal objetivo deste trabalho foi avaliar características funcionais relacionadas com o desempenho fotossintético (dez características foliares, sete características anatômicas e 16 relacionadas com as trocas gasosas e fluorescência da clorofila a) de plantas de *Myrsine coriacea* provenientes de quatro altitudes de origem (630, 910, 1.229 e 2.019 m) quando cultivadas em jardim comum situado em alta (HA; 914 m) e baixa altitude (LA; 108 m). Nossas hipóteses foram que em *M. coriacea*: i) os indivíduos terão maior fotossíntese líquida quando cultivados em HA, independentemente da altitude da população de origem; ii) as populações terão desempenho diferente considerando a grande variação ambiental observada nas populações naturais independente da altitude do jardim comum. Em LA houve mortalidade de todas as plantas provenientes de 2.019 m. A assimilação líquida de CO₂ e a respiração no escuro foram maiores em HA em relação a LA, independentemente da altitude de origem. Plantas em LA apresentaram uma maior pressão oxidativa sobre a maquinaria fotossintética (maior relação ETR/A_g) em relação as plantas em HA, independentemente da altitude de origem. Em LA, independentemente da altitude de origem, a fotorrespiração representou aproximadamente 60% da fotossíntese bruta, valor 50% superior ao verificado em plantas HA. Em HA plantas provenientes de 2.019 m apresentaram adaptação local em características foliares (menor área foliar específica e tamanho dos estômatos; maior densidade de presença de tricomas) que foram relacionadas com uma menor transpiração e capacidade fotossintética.

Palavras craves: Adaptação local • balanço de carbono • capacidade fotossintética • plasticidade fenotípica • transpiração

ABSTRACT

In a scenario of climate change, seeking to understand the factors that regulate the differences and the adaptive capacity of species is fundamental to understand how species will respond to the increase in temperature. Thus, the main objective of this work was to evaluate functional characteristics related to photosynthetic performance (ten leaf characteristics, seven anatomical characteristics and 16 related to gas exchange and chlorophyll a fluorescence) of *Myrsine coriacea* plants from four altitudes of origin (630, 910, 1229 and 2019 m) when grown in a common garden located at high (HA; 914 m) and low altitude (LA; 108 m). Our hypotheses were that in *M. coriacea*: i) individuals will have higher net photosynthesis when cultivated in HA, regardless of the altitude of the source population; ii) the populations will have different performance considering the great environmental variation observed in the natural populations regardless of the altitude of the common garden. In LA there was mortality of all plants from 2019 m. Net CO₂ assimilation and dark respiration were higher in HA compared to LA, regardless of the altitude of origin. Plants in LA showed a higher oxidative pressure on the photosynthetic machinery (highest ratio ETR/A_g) compared to plants in HA, regardless of the altitude of origin. In LA, regardless of the altitude of origin, photorespiration represented approximately 60% of gross photosynthesis, a value 50% higher than that observed in HA plants. In HA plants from 2019 m showed local adaptation in leaf characteristics (lower specific leaf area and stomata size; higher density of trichomes) that were related to lower transpiration and photosynthetic capacity.

Keywords: Carbon balance • local adaptation • photosynthetic capacity • phenotypic plasticity • transpiration

1. INTRODUÇÃO

As mudanças climáticas não são uma ameaça distante. Estimava-se que até o final de 2100 ocorreria um aumento de 1,5°C na temperatura média global (IPCC, 2007). Porém, de acordo com o relatório do IPCC (IPCC, 2021), há mais de 50% de chance que o aumento de 1,5°C seja atingido ou ultrapassado entre 2021 e 2040. Se altas emissões de carbono continuarem a serem lançadas na atmosfera, até o final do século, o aquecimento poderá aumentar para 3,3 a 5,7°C (IPCC, 2021), sendo que, nos últimos três milhões de anos o aquecimento da terra não ultrapassou 2,5°C. Contudo, ao longo da superfície da Terra, as variações na temperatura do ar são significativas e heterogêneas (CHAHINE et al., 2008). Estima-se que até o ano de 2100, regiões com latitudes elevadas poderão aquecer até 10°C, enquanto nos trópicos o aquecimento será da ordem 3 a 4°C, sendo que maiores temperaturas serão verificadas durante as noites de inverno (CIAIS et al., 2013).

No geral, é esperado que o aumento da concentração de CO₂ no ar atmosférico promova um aumento nas taxas fotossintéticas foliares, principalmente em plantas C₃ (BRAGA et al., 2021; ORT et al., 2015). Entretanto, a magnitude desse estímulo ainda não foi esclarecida, uma vez que o efeito será dependente da temperatura foliar (DUSENGE; DUARTE; WAY, 2019). Apesar da sua importância, o conhecimento dos impactos do aumento de temperatura devido as mudanças climáticas sobre a vegetação ainda é limitado (ALEIXO et al., 2010). Com o aquecimento global é esperado que várias espécies migrem para maiores latitudes e/ou altitudes em decorrência de temperaturas mais próximas da sua condição natural (MALHI et al., 2010). Entretanto, a rapidez em que as mudanças estão ocorrendo coloca em risco a biodiversidade, pois dificulta os processos evolutivos e adaptativos (BARNOSKY et al., 2011). Assim, as investigações dos possíveis efeitos do aumento de temperatura sobre a vegetação tornam-se cada vez mais necessárias.

Em função de possibilitar o entendimento de como as mudanças climáticas poderão afetar o desempenho fotossintético das plantas, a determinação da capacidade fotossintética ao longo de gradientes de altitude tem despertado cada vez mais atenção (PENG; BLOOMFIELD; PRENTICE, 2020; WANG et al., 2017). O efeito da altitude sobre a fotossíntese líquida foliar têm mostrado variações,

dificultando o entendimento de padrões gerais. Em algumas plantas, a fotossíntese líquida sob luz saturante (A_{sat}) permaneceu inalterada ou aumentou em altitudes mais elevadas, como forma de superar os efeitos da baixa pressão parcial de CO_2 (BRESSION et al., 2011; SHI et al., 2006). Em outros estudos, A_{sat} diminuiu com o aumento da altitude devido às limitações difusivas para absorção do CO_2 (SMITH; JOHNSON, 2008; SMITH et al., 2009). Sob condições naturais, as respostas fotossintéticas verificadas são o resultado da existência de plasticidade fenotípica e/ou ocorrência de alelos adaptativos (PIGLIUCCI, 2001). Poucos estudos realizaram a separação do efeito destes dois componentes para melhor entendimento do processo de adaptação (BEREND; HAYNES; MACKENZIE, 2019). Experimentos em jardim comum [projetos experimentais onde plantas de diferentes procedências são cultivadas nas mesmas condições] vêm sendo uma abordagem aprimorada à busca do melhor entendimento sobre o processo de adaptação (BEREND; HAYNES; MACKENZIE, 2019; BLANQUART et al., 2013). No entanto, este tipo de abordagem é realizada para estudos com espécies herbáceas de clima temperado (ALEXANDER; DIEZ; LEVINE, 2015; BEREND; HAYNES; MACKENZIE, 2019; BLANQUART et al., 2013; DE FRENNE et al., 2013; OHSAWA; IDE, 2008; PRATT; MOONEY, 2013; SUN et al., 2016). Estudos sobre o processo de adaptação da capacidade fotossintética de espécies arbóreas ao longo de gradientes de altitude em regiões de clima tropical são praticamente inexistentes.

Um fator importante que vem ocorrendo na maioria destes estudos está relacionado a utilização de apenas um local experimental, que impossibilita a distinção dos efeitos genéticos no padrão de adaptação entre as populações. Isso só é possível quando são estabelecidos dois ou mais jardins comuns em condições divergentes, por exemplo, diferentes altitudes (BEREND; HAYNES; MACKENZIE, 2019; TURESSON, 1922). Quando a altitude é utilizada como um fator associado ao jardim comum, podemos inferir como um determinado recurso e/ou condição irá atuar em indivíduos de uma mesma população e como diferentes populações irão responder a um mesmo fator (MIDOLO et al., 2019). Escolher uma espécie com ampla distribuição também é fundamental, pois espera-se que espécie com ampla distribuição apresentem variações genéticas que permitem a esses indivíduos sobreviver em ambientes contrastantes.

Myrsine coriacea (Sw.) R. Br. ex Roem & Schult pertencente à família Primulaceae foi proposta como modelo para entender as respostas funcionais de árvores tropicais às mudanças climáticas na Floresta Atlântica (Capítulo 1), devido principalmente a sua ampla ocorrência ao longo de diferentes formações florestais (ver, SÁNCHEZ-TAPIA ET AL., 2018). Com isso, é uma espécie presente em praticamente todos os estratos altitudinais na Floresta Atlântica, que varia do nível do mar até aproximadamente 2.900 m de altitude (TABARELLI et al., 2005). Além disso, é uma espécie com ampla utilização em projetos de restauração ecológica dada sua capacidade de atração da avifauna e caráter pioneiro de ocupação do espaço (JESUS; ARAUJO, 2007; PASCOTTO, 2007).

Matrizes de *M. coriacea* estudadas no **Capítulo 1** mostraram a existência de modificações em características estomáticas e morfológicas foliares (densidade de venação, densidade de tricomas e área foliar específica) ao longo do gradiente de altitude (dados não publicados). Em altitudes mais elevadas, essas modificações estão associadas com o aumento nas taxas de carboxilação e eficiência no uso da água (Capítulo 1). Entretanto, não foi possível concluir com este estudo se as modificações encontradas resultam de fatores genéticos ou ambientais. Assim, o principal objetivo deste trabalho foi avaliar as características funcionais relacionadas com o desempenho fotossintético (dez características foliares, sete características anatômicas e 16 fotossintéticas) de plantas de *M. coriacea* provenientes de indivíduos silvestres ocorrentes em quatro altitudes de origem (630, 910, 1.229 e 2.019 m) cultivadas em jardim comum situado em alta (HA; 914 m) e baixa altitude (LA; 108 m). Nossas hipóteses são, *i*) todos os indivíduos terão maior fotossíntese líquida quando cultivados em jardim comum em alta altitude (HA); *ii*) indivíduos de populações distintas terão desempenho diferente independente da altitude do jardim comum, considerando a grande variação ambiental observada nas populações naturais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Produção de mudas

Ao longo de um gradiente de 1.517 m de altitude foram selecionadas populações em cinco altitudes de origem (657, 930, 1.229, 1.863 e 2.174 m). Em cada população, foram selecionadas 10 árvores matrizes que apresentavam

aproximadamente a mesma altura e diâmetro à altura do peito. De acordo com a classificação de Köppen revisada para o Brasil por Alvares et al. (2013), o clima da região de localização das plantas matrizes é classificado como Cfa (Clima subtropical, com verão quente), Cfb (Clima temperado, com verão ameno) e Cwb (Clima subtropical de altitude, com inverno seco e verão ameno).

Foram coletados frutos maduros (novembro de 2017) ao longo da copa de todas as matrizes selecionadas em cada uma das cinco populações. Após a coleta, os frutos foram submetidos à escarificação mecânica em peneira de aço e as sementes foram secas à sombra. Posteriormente, as sementes foram imediatamente levadas para o viveiro florestal, localizado em Jerônimo Monteiro-ES. No viveiro, as sementes foram estratificadas em bandejas de polipropileno com capacidade de 19.5 cm³ contendo areia lavada como substrato. Em março de 2018, ocorreu a repicagem das plântulas para tubetes de polipropileno, com capacidade de 280 cm³, contendo substrato comercial (Tropstrato®, HT hortaliças) (**Fig. 1a**). As mudas foram mantidas durante 12 meses sob telas de poliolefinas (Sombrite®), com retenção de 50% de radiação e irrigação por microaspersão três vezes ao dia (**Fig. 1b**). Em março de 2019, as mudas foram transferidas para vasos de três litros contendo como substrato uma proporção de 3:1 de substrato comercial (Tropstrato®, HT hortaliças) e areia (**Fig. 2a**), onde permaneceram até a montagem dos experimentos em campo (**Fig. 2b**).

Devido à baixa sobrevivência das mudas provenientes de 1.863 e 2.174 m, e por não apresentarem diferenças em características estomáticas e morfológicas no **Cap. 1**, elas foram agrupadas e representadas pelo valor médio entre elas (2.019 m). Então, foram consideradas quatro altitudes de origem para as mudas utilizadas nos experimentos de jardins comum: **657, 930, 1.229 e 2.019 m**.



Figura 1. Repicagem das plântulas de *Myrsine coriacea* para tubetes de polipropileno (a), após a repicagem, as mudas foram mantidas sob telas de poliolefinas (Sombrite®) com retenção de 50% de radiação (b).



Figura 2. Transferência de mudas *Myrsine coriacea* para vasos de três litros contendo como substrato uma proporção de 3:1 de substrato comercial (Tropstrato®, HT hortaliças) e areia (a e b). Após a transferência, as mudas permaneceram no viveiro floresta localizado em Jerônimo Monteiro-ES até a montagem dos experimentos em campo (c).

2.2. Caracterização dos locais experimentais

Para caracterização climática, foram instalados quatro sensores de temperatura e umidade relativa do ar (OM-HL-SP IP67, Omega Engineering Inc, Norwalk, EUA) em cada experimento. Os sensores permaneceram durante os dias de avaliações e foram posicionados na região central de cada bloco. A temperatura (T_{ar}) e umidade (UR) eram registradas a cada hora. A partir destes dados, também foram determinadas a pressão de saturação de vapor de água (e_s) e pressão parcial de vapor (e_a) que foram utilizadas para calcular o déficit de pressão de vapor (DPV) de acordo com Pereira et al. (2002):

$$DPV = e_s - e_a$$

$$e_s = 0,6108 * 10^{7,5 * T_{ar} / 237,3 + T_{ar}}$$

$$e_a = UR * e_s / 100$$

Os valores mínimos e máximos da T_{ar} foram determinados diariamente e, então foi calculada a amplitude térmica diária. Os valores médios da T_{ar} , amplitude térmica e DPV foram calculados considerando o período diurno e noturno (**Tabela 1**). Para a caracterização química do solo (**Tabela 1**) foram coletadas quatro amostras de solo em cada experimento. Após a coleta, as amostras foram peneiradas e homogeneizadas formando uma amostra composta. A caracterização química e física do solo, foi realizada conforme EMBRAPA (1997). O potencial hidrogeniônico (pH) foi determinado após a adição de água (relação solo-água 1:2,5); a concentração de fósforo (P) foi determinada após a extração com extrator Mehlich e determinação por colorimetria; a concentração de potássio (K) e sódio (Na) foram determinadas 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 extrator KCl 1 mol/L e determinação por espectrometria de absorção atômica; a concentração de alumínio (Al) foi determinada após a extração com extrator KCl 1 mol/L e quantificação por titulometria; o teor de matéria orgânica (MO) foi determinado após oxidação do carbono por via úmida com dicromato de potássio em meio ácido (H_2SO_4).

Tabela 1. Temperatura do ar (T_{ar}), amplitude térmica, déficit de pressão de vapor (DPV) e parâmetros químicos do solo (pH: potencial hidrogeniônico; P: fósforo; K: potássio; Na: sódio; Ca: cálcio; Mg: magnésio; Al: alumínio; MO: matéria orgânica) de jardim comum localizados em baixa (LA; 108 m) e alta (HA; 914 m) altitude na Floresta Atlântica.

Características		Jardim Comum	
		LA	HA
T_{ar} (°C)	Dia	35,7	26,8
	Noite	23,6	18,2
Amplitude térmica (°C)	Dia	20,6	17,3
	Noite	13,2	7,3
DPV (kPa)	Dia	4,00	1,54
	Noite	0,80	0,22
pH (H ₂ O)		5,07	5,93
P (mg/dm ³)		3,52	29,65
K (mg/dm ³)		171,00	73,00
Na (mg/dm ³)		5,00	0,00
Ca (cmolc/dm ³)		2,36	3,78
Mg (cmolc/dm ³)		1,03	1,07
Al (cmolc/dm ³)		0,00	0,00
MO (g/Kg)		23,81	43,57

2.3. Condições experimentais

Foram estabelecidos dois jardins comum, localizados em diferentes altitudes. Em Alegre-ES (20°75'47,88"/ 41°48'93,55") foi estabelecido um jardim comum em uma área localizada a aproximadamente 108 m de altitude (baixa altitude; LA). A área do jardim comum estabelecido na cidade de Marechal Floriano-ES (20°25'38,41"/ 40°51'29,08"), está localizada a aproximadamente 914 m de altitude (alta altitude; HA). Ambas as áreas são afetadas por perturbação antrópicas (pastagens abandonadas e áreas agrícolas). O plantio experimental LA foi estabelecido em julho de 2019, enquanto o plantio HA foi estabelecido em dezembro de 2019. Os jardins foram montados em quatro blocos, e cada bloco foi formado por cinco linhas contendo oito plantas (duas de cada altitude de origem), totalizando 160 mudas. Na bordadura foram plantadas mudas de populações variadas. As mudas foram plantadas com espaçamento de dois metros dentro das linhas e três metros entre linhas (**Fig. 3**). O Plantio foi realizado em covas com dimensões 30x30x30 cm, onde foi adicionado 200 g de super fosfato simples 15 dias antes do plantio. Para garantir o pegamento das mudas, após o plantio foram

realizadas irrigações regulares com a utilização de regadores manuais. O controle de plantas daninhas em LA foi realizado por roçadeira mecânica e em HA com capina manual e controle químico com utilização do herbicida Roundup Original®. Sempre que necessário, foi realizado o controle de formigas utilizando o formicida Mirex-SD®.

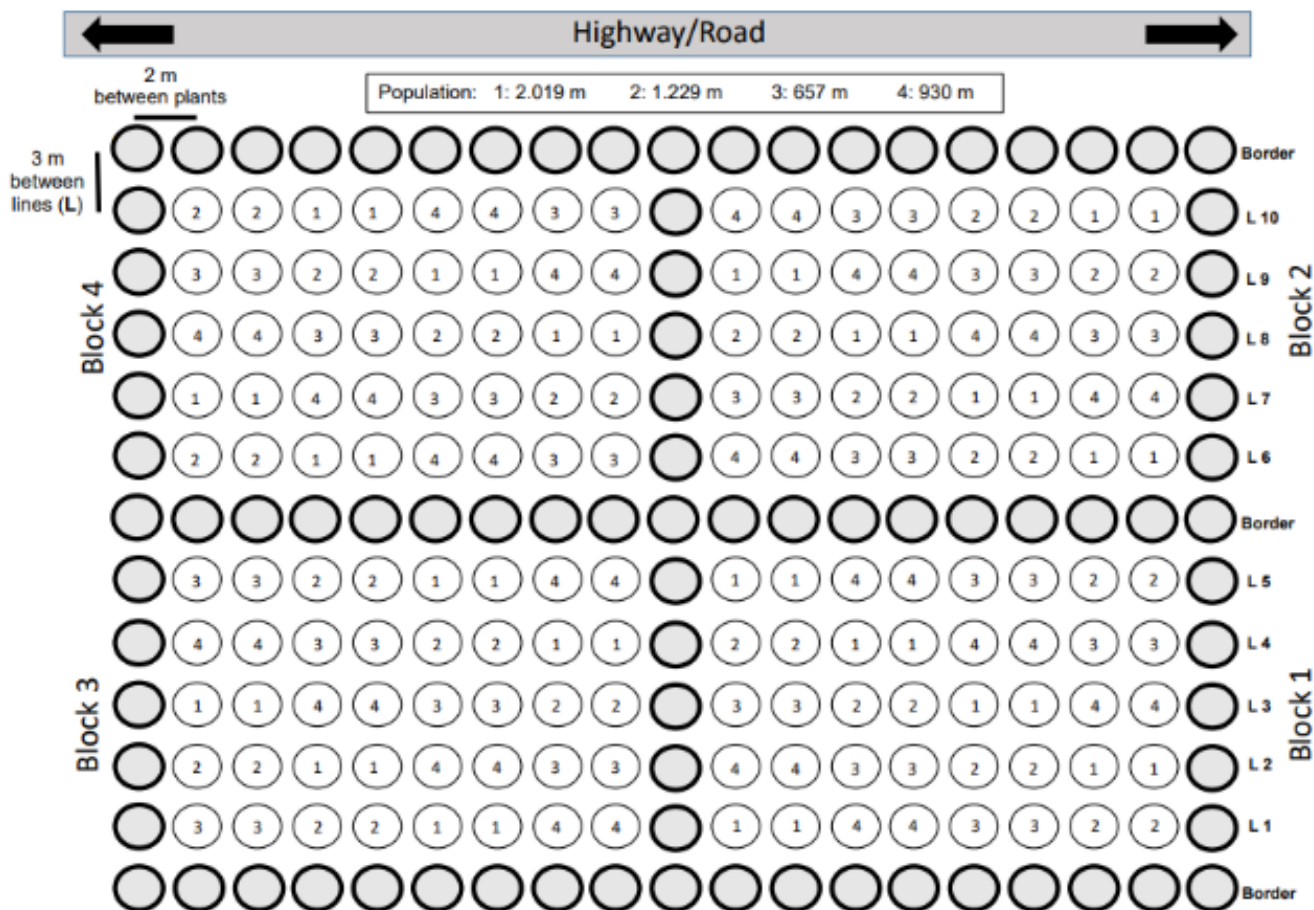


Figura 3. Croqui detalhando o desenho experimental. O delineamento utilizado foi de blocos casualizados com tratamentos dispostos em pares dentro de cada bloco. Círculos em cinza simbolizam bordadura.

2.4. Avaliações

As avaliações morfológicas foliares, clorofilas, anatômicas, potencial hídrico e trocas gasosas foram realizadas em janeiro de 2021. Enquanto as medições de crescimento foram realizadas em janeiro e abril de 2021.

2.4.1. Análises de crescimento, morfológicas foliares e de clorofilas

Para as análises de crescimento, morfologia foliar e de clorofilas foram utilizadas três plantas por população em cada bloco, totalizando 12 plantas por população em cada jardim. Para as análises de crescimento foram medidas a altura de planta, utilizando-se régua graduada (precisão de 0,1 cm) e o diâmetro do caule utilizando-se paquímetro digital (ZAAS-1-0013, Amatools, São Paulo, BR) (precisão de 0,01 mm). A altura foi determinada do nível do substrato até a gema apical caulinar, enquanto o diâmetro foi determinado na região do coleto. A partir dessas medidas foram determinadas taxas de crescimento relativo referentes à altura do caule (RGR_H) e diâmetro do caule (RGR_D). Para o cálculo, foi utilizada a fórmula:

$$RGR_x = \frac{\ln_{X_2} - \ln_{X_1}}{t_2 - t_1}$$

Onde: X_2 e X_1 são referentes à altura da planta ou diâmetro do caule nos tempos t_2 e t_1 , respectivamente. \ln = logaritmo natural.

A determinação do número de ápices caulinar (NA) ocorreu pela contagem de todos os ápices presentes na planta. Também foram contabilizados o número de ramos laterais (LR) e realizado a medição da distância (DIS) entre o primeiro e último ramo, para a mensuração da distância média entre os entrenós (MDE).

A área foliar unitária (ULA) e a área foliar específica (SLA) foram realizadas como proposto por PÉREZ-HARGUINDEGUY et al. (2013). Para a determinação da área foliar unitária (ULA), foram coletadas quatro folhas totalmente expandidas no terço médio superior de cada planta, e através de um integrador de área foliar (LI-3100, LI-COR®, Lincoln, EUA) foi determinada a área de cada folha. Posteriormente, para determinação da SLA, a massa seca das folhas foi obtida após secagem em estufa de circulação forçada à 60° C, até peso constante. Para a espessura foliar (LT), foram utilizadas quatro folhas e foram realizadas duas medições na parte mediana de cada folha com o medidor de espessura digital (Digimess 130.403, Digimess, São Paulo, BR).

A determinação do índice de clorofilas foi realizada através do ClorofiLOG (CFL 1030, Falker, Rio Grande do Sul, BR), que consiste em um método não destrutivo que utiliza fotodiodos que emitem três comprimentos de onda, duas dentro do espectro do vermelho (635 e 660 nm) e um no infravermelho próximo (880 nm). Através de um sensor ocorre a captação da radiação transmitida através

da folha, permitindo estimativa do índice de clorofila *a* (IC_a), índice de clorofila *b* (IC_b) e o índice de clorofila total (IC_T) em unidades adimensionais.

2.4.2. Características estomáticas e densidade de venação e tricomas

Duas folhas de cada árvore foram coletadas e fixadas em FAA70 (solução aquosa de formaldeído a 37%, etanol a 50% e solução de ácido acético glacial a 13%) por 48 horas e então armazenadas em etanol a 70% (MARTINS et al., 2014). Um fragmento de lâmina foliar foi extraído da porção mediana de cada folha, evitando a nervura principal, e tratado com solução de hidróxido de sódio a 10% por 2 h a 60°C. As amostras foram então submetidas a quatro lavagens de 30 minutos em água destilada. O material foi clarificado com solução aquosa de hipoclorito de sódio 0,5% por aproximadamente 12h e submetido a três lavagens adicionais de 30 minutos em água destilada. O material vegetal foi então desidratado com álcool 30% e 70% por dez minutos cada. Finalmente, fragmentos de folhas foram corados com safranina aquosa a 1% (JOHANSEN, 1940) por 24 h e montados em gelatina glicerinada (KAISER, 1880).

As imagens dos cortes foram capturadas usando um microscópio de luz (Leica DM2500 LED, Wetzlar, Alemanha) equipado com um sistema de captura de imagem (Leica MC 170-HD, Wetzlar, Alemanha). Em cada fragmento foliar, foram obtidas duas imagens em dois campos por ampliação. As imagens foram digitalizadas e armazenadas no Leica Application Suite (Versão 4.9.0, Wetzlar, Alemanha). Para medir a densidade de venação (VD ; $mm\ mm^{-2}$) e de tricomas (TD ; $trichomes\ mm^{-2}$), as lâminas foram fotomicrografadas com a ampliação de 5x. Para a densidade estomática (SD ; $poros\ mm^{-2}$), foram fotomicrografadas com a ampliação de 20x. O comprimento da célula guarda (L ; μm) e do poro estomático (p ; μm) foram determinados utilizando 10 estômatos em cada campo de visão, considerando o aumento de 40x, seguindo protocolo de (SACK; BUCKLEY, 2016). Todas as medições foram feitas usando o programa Image Pro-Plus (versão 4.5, Media Cybernetics, Silver Spring, USA).

A VD e SD foram determinadas como descrito em MARTINS et al. (2014). A SD foi obtida após a divisão do número de estômatos contabilizados pela área total da imagem. A VD foi obtida após a divisão da soma dos comprimentos totais das nervuras pela área total da imagem. A TD foi obtida após a divisão do número de

tricomas contabilizados pela área total da imagem, conforme LABOURIAU et al. (1961). A partir dos dados de SD, L e p, também foram calculados índice de área de poro estomático (SPI; adimensional) e a condutância estomática máxima (g_{wmax} ; mol H₂O m⁻² s⁻¹). A SPI foi determinada conforme equação proposta por SACK et al. (2003). Enquanto a g_{wmax} foi calculada seguindo Martins et al. (2014), alterando os valores da difusão do vapor de água no ar (dw) e do volume molar de ar (v) de acordo com as fórmulas e constantes disponibilizadas em WANG et al. (2017).

2.4.3. Potencial hídrico foliar e condutividade hidráulica foliar

O potencial hídrico foliar (Ψ_w) foi avaliado por meio de uma câmara de pressão do tipo Scholander (1505D-EXP, PMS Instrument Company, Albany, EUA). Para as medições foram utilizadas duas plantas por população em cada bloco, totalizando oito plantas por população em cada jardim. O potencial hídrico (Ψ_w) foi determinado durante a antemanhã ($\Psi_{w\ pd}$) e ao meio-dia ($\Psi_{w\ pm}$). As análises ocorreram em folhas localizadas no ramo de avaliação das trocas gasosas. As folhas foram coletadas e colocadas na câmara de pressão, onde, em seguida, foi aplicada pressão até ocorrer a exsudação de xilema pelo pecíolo, então ocorreu a leitura da pressão aplicada. Para determinação do K_{leaf} , durante o período da antemanhã, uma folha próxima da folha utilizada para determinação do $\Psi_{w\ pd}$, foi coberta com um envelope, onde permaneceu no escuro durante toda a manhã. No interior no envelope foi colocado um algodão umedecido para manter a umidade elevada. Ao meio-dia, foi determinado o Ψ_w da folha que permaneceu no escuro ($\Psi_{w\ pm-dark}$) e a taxa de transpiração foliar (E^*). A determinação de E^* foi realizada em uma folha próxima daquela utilizada para determinação do $\Psi_{w\ pm-dark}$, para tal, utilizou-se um analisador de gases por infravermelho (Li 6400XT, Li-Cor, Lincoln, EUA) equipado com a câmara foliar de cm² (Li 6400-40, Li-Cor, Lincoln, EUA) sob radiação fotossinteticamente ativa saturante de 1.000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pressão parcial de CO₂ de 400 ppm e temperatura do bloco de 28°C. A determinação da condutividade hidráulica foliar (K_{leaf}) foi realizada conforme MARTINS et al. (2019):

$$K_{leaf} = E^* / (\Psi_{w\ pd} - \Psi_{w\ pm-dark})$$

2.4.4. Trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a*

As análises de trocas gasosas e fluorescência da clorofila *a* foram realizadas utilizando um analisador de gases por infravermelho (IRGA, Li 6400XT, Li-Cor, Lincoln, EUA) equipado com a câmara foliar 2cm² (Li 6400-40 LCF, Li-Cor, Lincoln, EUA). Foram utilizadas duas plantas por população em cada bloco, totalizando 8 plantas por população em cada jardim. As análises da assimilação líquida de CO₂ (A , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), condutância estomática (g_s , $\mu\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$), concentração interna de CO₂ (C_i , $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-1} \text{ ar}$) e a taxa transpiratória (E , $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) foram realizadas entre 8h30min-10h30min (am) e 14h30min-16h30min (pm) sob radiação fotossinteticamente ativa saturante de 1.000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, pressão parcial de CO₂ de 400 ppm e temperatura do bloco de 28°C.

Os parâmetros de fluorescência da clorofila *a* foram determinados na antemanhã (pd) e nos períodos am e pm de medição das trocas gasosas. Com exceção da antemanhã (pd), as folhas foram previamente adaptadas ao escuro por 30 min para que todos os aceptores primários de elétrons estivessem oxidados. A fluorescência mínima (F_0) foi obtida com a excitação da área amostrada por uma luz vermelho-distante (0,03 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), e a fluorescência máxima (F_m) pela aplicação de um pulso de 0,8 s de luz saturante (>6.000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). A diferença entre F_m e F_0 resulta na fluorescência variável (F_v). A F_v representa o fluxo de elétrons do centro de reação do PSII (P680) até a plastoquinona (PQH2). A partir daí foi calculado o rendimento quântico potencial do fotossistema II (VAN KOOTEN; SNEL, 1990) conforme a equação: $F_v/F_m = (F_m - F_0)/F_m$

Para os horários am e pm, também foram determinados o rendimento quântico efetivo do FSII ($Y(\text{II})$), dissipação regulada de energia térmica via ciclo das xantofilas ($Y(\text{NPQ})$) e dissipação de energia constitutiva e na forma de fluorescência ($Y(\text{NO})$) como proposto por KRAMER et al. (2004).

$$Y(\text{II}) = (F_m' - F_s)/F_m'$$

$$Y(\text{NPQ}) = (F_s/F_m') - (F_s/F_m)$$

$$Y(\text{NO}) = 1 - (Y(\text{II}) + Y(\text{NPQ}))$$

O $Y(\text{II})$ foi utilizado para estimar a taxa aparente de transporte de elétrons no fotossistema II (ETR), conforme a equação proposta por GENTY et al. (1989):

$$\text{ETR} = Y(\text{II}) \times \text{RFA} \times \alpha \times \beta$$

Onde, RFA é a radiação fotossinteticamente ativa ($1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) incidente sobre a folha; as constantes α representam a absorvância foliar (utilizou-se o valor de 0,93 que é um valor padrão encontrado para a espécie *M. coriacea*) e as constantes β representa a proporção de fotossistemas I e II (utilizou-se o valor padrão 0,5).

Baseado no requerimento de elétrons necessário para um evento de carboxilação e/ou oxigenação da ribulose-1,5-bisfosfato (RuBP), e considerando que uma molécula de CO_2 é liberada para cada ciclo de duas oxigenações devido à descarboxilação da glicina durante a síntese de serina no ciclo da fotorrespiração (LAING; OGREN; HAGEMAN, 1974), foi calculada a taxa de fotorrespiração (R_p) conforme VALENTINI et al. (1995):

$$R_p = 1/12[\text{ETR} - 4(A + R_L)]$$

Onde, R_L representa a taxa não fotorrespiratória de liberação de CO_2 mitocondrial, que foi calculada conforme MARTINS et al. (2013).

Já a determinação da respiração no escuro (R_d) foi realizada às 00h com a câmara foliar de 6 cm^2 (Li 6400-40, Li-Cor, Lincoln, EUA) sob pressão parcial de CO_2 de 400 ppm e temperatura do bloco de 25°C . A fotossíntese bruta (A_g) foi determinada após o somatório da A , R_L e R_p .

2.5. Análises estatísticas

Foram considerados sete tratamentos, levando em consideração a altitude de origem (657, 930, 1.229 e 2.019 m) e o local do jardim comum (LA ou HA). Para as análises multivariadas, os dados foram padronizados (média zero e variância unitária) e a distância euclidiana foi usada como medida de dissimilaridade (LEGENDRE; LEGENDRE, 2012). A análise de variância permutacional multivariada (PERMANOVA, ANDERSON, 2001) foi usada para testar as diferenças entre os tratamentos. Este teste também foi usado para comparações pareadas entre características. Um teste de dispersão multivariada também foi aplicado (PERMDISP, ANDERSON, 2006), pois as diferenças entre os grupos podem ser devidos a efeitos de localização ou dispersão (ver, WARTON et al., 2012). Uma análise de coordenadas principais (PCoA) foi utilizada para visualizar

como as unidades amostrais (árvores individuais) se organizam no espaço multivariado.

As características que apresentaram variação tiveram suas médias representada por gráfico de barras. O teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$) foi utilizado a fim de comparar as médias entre os tratamentos. Todas as análises foram executadas no ambiente R (versão 3.5.1; R Core Team 2018) usando os pacotes 'cowplot' (WILKE, 2020), 'ggplot2' (WICKHAM et al., 2020) e 'vegan' (OKSANEN et al., 2020).

3. RESULTADOS

Todas as plantas provenientes de 2.019 m cultivadas em LA não sobreviveram. Considerando os demais tratamentos, de forma geral, foram detectadas diferenças entre os sete tratamentos ($P = 0,001$), e plantas provenientes de 2.019 m em HA ficaram isoladas dos demais tratamentos no espaço multivariado. Os demais tratamentos foram agrupados de acordo com a altitude do jardim comum (HA ou LA) (**Fig. 4**).

Pelo teste PERMANOVA analisando as características de forma isolada, para as características de crescimento, hidráulicas e anatômicas, apenas RGR_H , NA, MDE, ULA, SLA, LT, $\Psi_{w\ pd}$, $\Psi_{w\ pm}$, K_{leaf} , TD, SD, L, p e g_{wmax} apresentaram variação em função dos tratamentos. As características que apresentaram explicação acima de 60% foram K_{leaf} (73,71%), seguido por LT (67,05%), g_{wmax} (66,56%) e $\Psi_{w\ pd}$ (65,53%) (**Tabela 2**). Já para os parâmetros de trocas gasosas a A , g_s , C_i , E , $Y(II)$, $Y(NPQ)$, ETR, ETR/ A_g e R_p/A_g apresentaram variação em ambos os horários (am e pm). Enquanto a A_g/E e F_v/F_m apresentaram variação no período da tarde (pm). Também ocorreu variação para a R_d . Neste grupo de parâmetros, a A foi a única característica com 80% de explicação (A_{am} com 82,72% e A_{pm} com 80,48%) (**Tabela 3**).

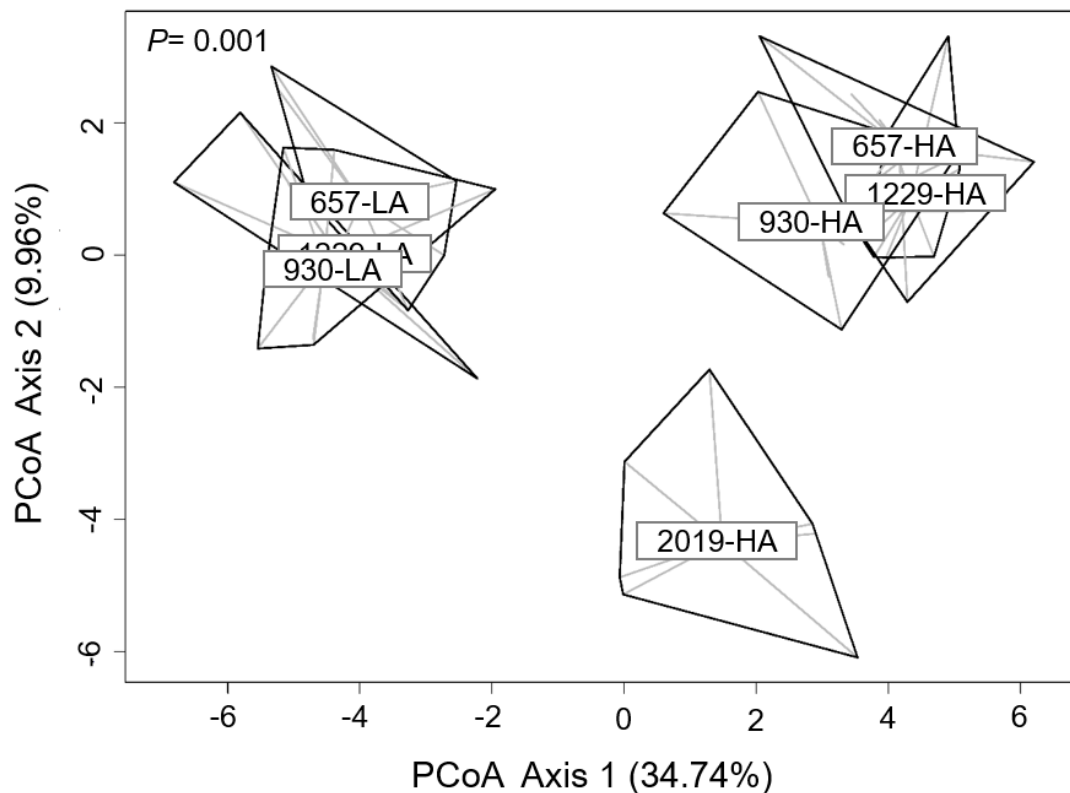


Figura 4. Análises de coordenadas principais (PCoA) para sete tratamentos (657-HA, 930-HA, 1.229-HA, 2.019-HA, 657-LA, 930-LA, 1.229-LA) baseada em características de crescimento, morfológicas foliares, potencial hídrico, anatômicas e parâmetros de trocas gasosas de árvores de *Myrsine coriacea*. Os pontos no centro de cada grupo indicam a posição do centroide. As linhas contínuas representam o *convex-hull* para cada grupo. As linhas cinzas são a distância de cada planta individual aos seus respectivos centroides. Valor de probabilidade (P) obtido por PERMANOVA.

Tabela 2. Porcentagem da variação total explicada pelo modelo (R^2) considerando a PERMANOVA, coeficiente de variação (CV) e média (\bar{X}) para característica de crescimento, morfológicas foliares, potencial hídrico e anatômicas da espécie *Myrsine coriacea* para sete tratamentos em dois jardins comum.

Atributos	R^2	CV (%)	\bar{X}
RGR _H	28,10**	49,18	0,81
RGR _D	4,73	61,57	0,92
NA	30,39**	83,27	49,55
MDE	19,06*	42,19	5,15
ULA	39,02***	27,93	28,83
SLA	32,98***	12,61	118,23
LT	67,05***	12,57	0,27
Cl _a /Cl _b	10,06	15,86	3,20
Cl _T	7,23	13,53	45,38
$\Psi_{w_{pd}}$	65,53***	85,74	-0,22
$\Psi_{w_{pm}}$	41,57***	42,06	-0,93
K _{leaf}	73,71***	74,47	1,88
VD	16,16	7,95	4,38
TD	32**	17,38	13
SD	48,59***	15,40	197,29
L	53,27***	8,32	37,89
p	59,57***	12,28	22,52
SPI	18,55	11,88	28,01
g_{wmax}	66,56***	17,69	2,45

Taxa de crescimento relativo da altura do caule (RGR_H; mm mm⁻¹ dia⁻¹); taxa de crescimento relativo do diâmetro do caule (RGR_D; mm mm⁻¹ dia⁻¹); número de ápices caulinar (NA); distância média dos entrenós (MDE; cm ramo⁻¹); área foliar unitária (ULA; cm²); área foliar específica (SLA; cm² g⁻¹); espessura foliar (LT; μ m); razão entre os índices de Clorofila a e Clorofila b (Cl_a/ Cl_b); índices de clorofilas totais (Cl_T); potencial hídrico na antemanhã ($\Psi_{w_{pd}}$; MPa); potencial hídrico do ramo ($\Psi_{w_{pm}}$; MPa), condutância hidráulica foliar (K_{leaf}; μ mol H₂O m⁻² s⁻¹ MPa); densidade de venação (VD; mm mm⁻²); densidade de tricomas (TD; tricomas mm⁻²); densidade estomática (SD; estômatos mm⁻²); comprimento da célula guarda (L; μ m); comprimento do poro estomático (p ; μ m); índice de área de poro estomático (SPI; x10⁻⁴); condutância estomática máxima (g_{wmax} ; mol H₂O m⁻² s⁻¹).

Tabela 3. Porcentagem da variação total explicada pelo modelo (R^2) considerando a PERMANOVA, coeficiente de variação (CV) e média (\bar{X}) para os parâmetros de trocas gasosas da espécie *Myrsine coriacea* para sete tratamentos em dois jardins comum.

Atributos	R^2	CV (%)	\bar{X}
A_{am}	82,72***	60,62	8,17
A_{pm}	80,48***	58,81	6,36
g_s_{am}	79,31***	85,14	76,74
g_s_{pm}	69,17***	75,10	56,24
C_i_{am}	64,26***	27,96	181,85
C_i_{pm}	33,77**	40,23	165,95
E_{am}	79,46***	65,82	2,19
E_{pm}	60,37***	50,78	1,94
A_g/E_{am}	14,52	235,20	15,15
A_g/E_{pm}	22,12*	53,45	6,18
R_d	48,62***	61,78	0,72
F_v/F_m_{pd}	14,84	9,69	0,88
F_v/F_m_{am}	6,07	6,30	0,75
F_v/F_m_{pm}	27,33**	12,73	0,76
$Y(II)_{am}$	69,42***	24,23	0,21
$Y(II)_{pm}$	61,67***	24,04	0,16
$Y(NPQ)_{am}$	36,75***	14,28	0,55
$Y(NPQ)_{pm}$	29,06**	15,59	0,56
$Y(NO)_{am}$	7,99	22,31	0,24
$Y(NO)_{pm}$	15,85	29,44	0,28
ETR_{am}	69,36***	24,02	95,91
ETR_{pm}	62,9***	23,85	75,48
ETR/A_g_{am}	68,67***	19,30	7,45
ETR/A_g_{pm}	65,64***	20,42	7,42
R_p_{am}	5,64	24,01	5,15
R_p_{pm}	15,85	27,63	4,05
R_p/A_g_{am}	68,79***	41,89	0,43
R_p/A_g_{pm}	65,56***	44,27	0,43

Taxa de assimilação líquida de CO_2 (A ; $\mu mol CO_2 m^{-2} s^{-1}$); condutância estomática (g_s ; $\mu mol H_2O m^{-2} s^{-1}$); concentração intracelular de CO_2 (C_i ; $\mu mol CO_2 m^{-2} ar$); taxa de transpiração (E ; $mmol H_2O m^{-2} s^{-1}$); razão entre a taxa de fotossíntese bruta e a taxa de transpiração (A_g/E); respiração no escuro (R_d ; $\mu mol CO_2 m^{-2} s^{-1}$); rendimento quântico potencial do fotossistema II (F_v/F_m) avaliado às 04 (pd), 08 (am) e 14h (pm); rendimento quântico efetivo do FSII ($Y(II)$); dissipação regulada de energia térmica via ciclo das xantofilas ($Y(NPQ)$); dissipação de energia constitutiva e na forma de fluorescência $Y(NO)$; taxa de transporte de elétrons (ETR ; $\mu mol e^{-} m^{-2} s^{-1}$); razão entre a taxa de transporte de elétrons e a taxa de fotossíntese bruta (ETR/A_g); taxa de fotorrespiração (R_p ; $\mu mol CO_2 m^{-2} s^{-1}$) e razão entre a taxa de fotorrespiração e a taxa de fotossíntese bruta (R_d/A_g). Análises realizadas entre 8h30min-10h30min (am) e 14h30min-16h30min (pm).

Pelo teste de média, com exceção de 2.019 m, plantas localizadas em HA, apresentaram aumento da RGR_H (**Fig. 5a**) em relação as plantas localizadas em LA. Por outro lado, todos os tratamentos em HA apresentaram diminuição no NA (**Fig. 5b**). Já as características de MDE, ULA e SLA não apresentaram um padrão para a formação dos grupos. 2.019-HA apresentou menor MDE (**Fig. 5c**), enquanto 657-HA e 930-HA apresentaram maiores valores. Para a ULA (**Fig. 5d**), 657-HA e 1.229-HA tiveram maiores valores em relação aos demais tratamentos. Enquanto que para SLA (**Fig. 5e**), o menor valor ocorreu para 2.019-HA. Para a LT (**Fig. 5f**), 2.019-HA apresentou o maior valor, enquanto os demais tratamentos em HA apresentaram os menores valores em relação a LA. Por outro lado, em HA ocorreu aumento do $\Psi_{w\ pd}$ (**Fig. 5g**) e $\Psi_{w\ pm}$ (**Fig. 5h**) em todos os tratamentos. Para K_{leaf} (**Fig. 5i**), com exceção de 2.019-HA que apresentou valor intermediário, todos os demais indivíduos localizados em HA, apresentaram maiores valores que indivíduos localizados em LA. A TD (**Fig. 5j**) foi maior em 930-HA e 2.019-HA. Para SD (**Fig. 5k**), L (**Fig. 5l**) e ρ (**Fig. 5m**), a variação ocorreu exclusivamente entre 2.019-HA e os demais tratamentos, onde 2.019-HA apresentou aumento da SD com diminuição da L e ρ (**Fig. 5k; Fig. 6**). Entretanto, a g_{wmax} variou em função da altitude do jardim comum, com plantas localizadas em LA apresentando maiores valores.

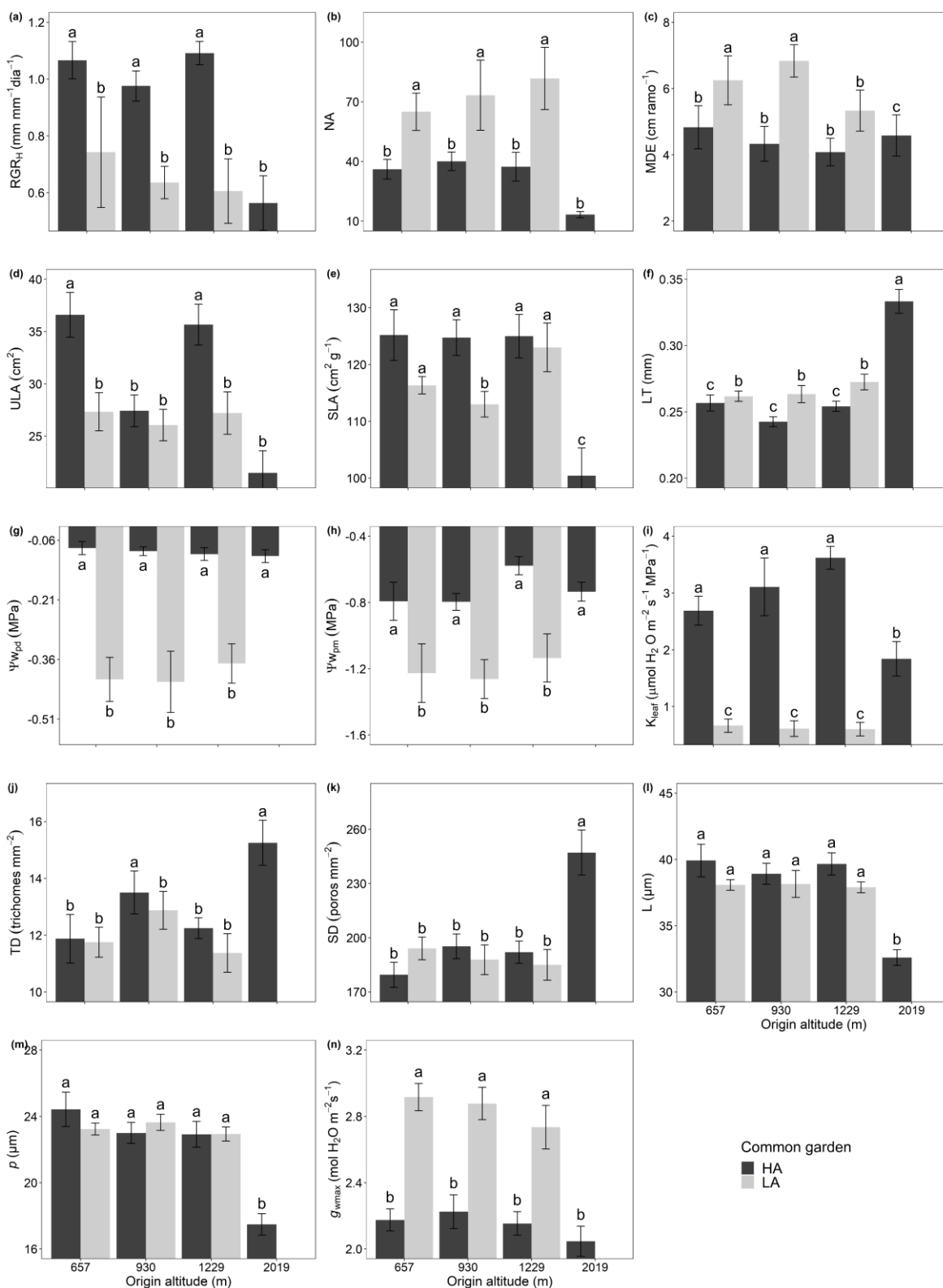


Figura 5. Variação na taxa de crescimento relativo da altura do caule (RGR_H; **a**), número de ápices (NA; **b**), distância média dos entrenós (MDE; **c**), área foliar unitária (ULA; **d**), área foliar específica (SLA; **e**), espessura foliar (LT; **f**), potencial hídrico na antemanhã (Ψ_{wpd}; **g**); potencial hídrico do ramo (Ψ_{wpm}; **h**), condutância hidráulica foliar (K_{leaf}; **i**); densidade de tricomas (TD; **j**), densidade estomática (SD; **k**), comprimento da célula guarda (L; **l**), comprimento do poro estomático (P; **m**) e

condutância estomática máxima (g_{wmax} ; **n**) entre sete tratamentos da espécie *Myrsine coriacea* em duas condições de jardins comum. Letras diferentes indicam diferença significativa entre as populações pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

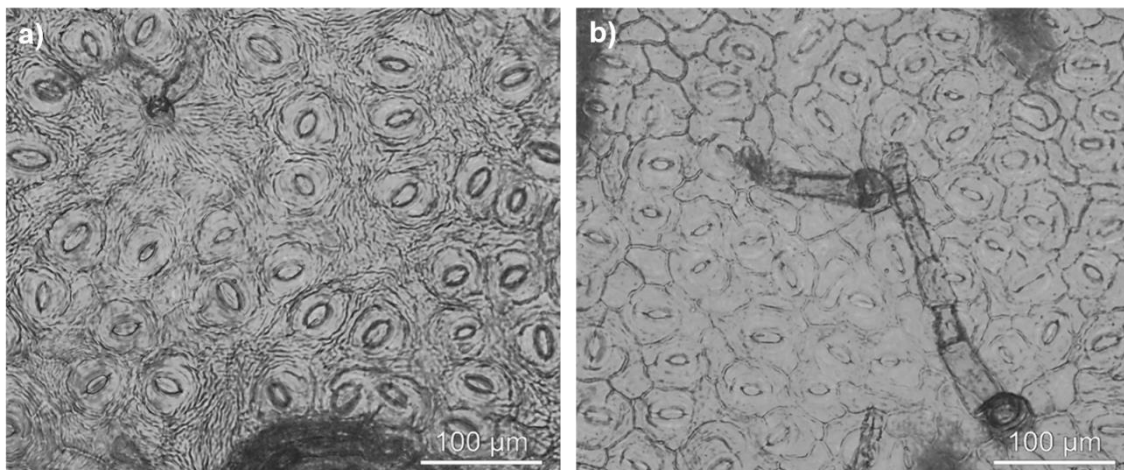


Figura 6. Epiderme abaxial evidenciando o padrão estomático [(a) 657-HA; (b) 2.019-HA] em folhas de árvores de *Myrsine coriacea* em condição de jardim comum em alta altitude (HA) na Floresta Atlântica.

Em relação as trocas gasosas, $A_{(am \text{ e } pm)}$ (**Fig. 7a-b**), $g_{s(am \text{ e } pm)}$ (**Fig. 7c-d**), $C_{i(am \text{ e } pm)}$ (**Fig. 7e-f**), $E_{(am \text{ e } pm)}$ (**Fig. 7g-h**), R_d (**Fig. 7i**), $F_v/F_{m_{pm}}$ (**Fig. 8a**), $Y(II)_{(am \text{ e } pm)}$ (**Fig. 8b-c**) e $ETR_{(am \text{ e } pm)}$ (**Fig. 8f-g**) foi maior em plantas situadas em HA em relação as plantas em LA. Embora, também tenha ocorrido diferenças entre 2.019-HA e os demais tratamentos dentro de HA para $A_{(am \text{ e } pm)}$ (**Fig. 7a-b**), $g_{s_{am}}$ (**Fig. 7c**) e E_{am} (**Fig. 7g**). Já para $Y(NPQ)_{am}$ (**Fig. 8d**), todos os indivíduos localizados em LA juntamente com 2.019-HA apresentaram um aumento em relação aos demais tratamentos em HA. Para $Y(NPQ)_{pm}$ (**Fig. 8e**), 930-LA e 1.229-LA apresentaram os maiores valores. Para $ETR/A_g_{(am \text{ e } pm)}$ (**Fig. 8h-i**) e $R_p/A_g_{(am \text{ e } pm)}$ (**Fig. 8j-k**), plantas em LA apresentaram maiores valores que as populações de HA, com destaque para 2.019-HA que apresentou valores intermediários entre os demais tratamentos de HA e LA para ETR/A_g_{am} (**Fig. 8h**) e R_p/A_g_{am} (**Fig. 8j**).

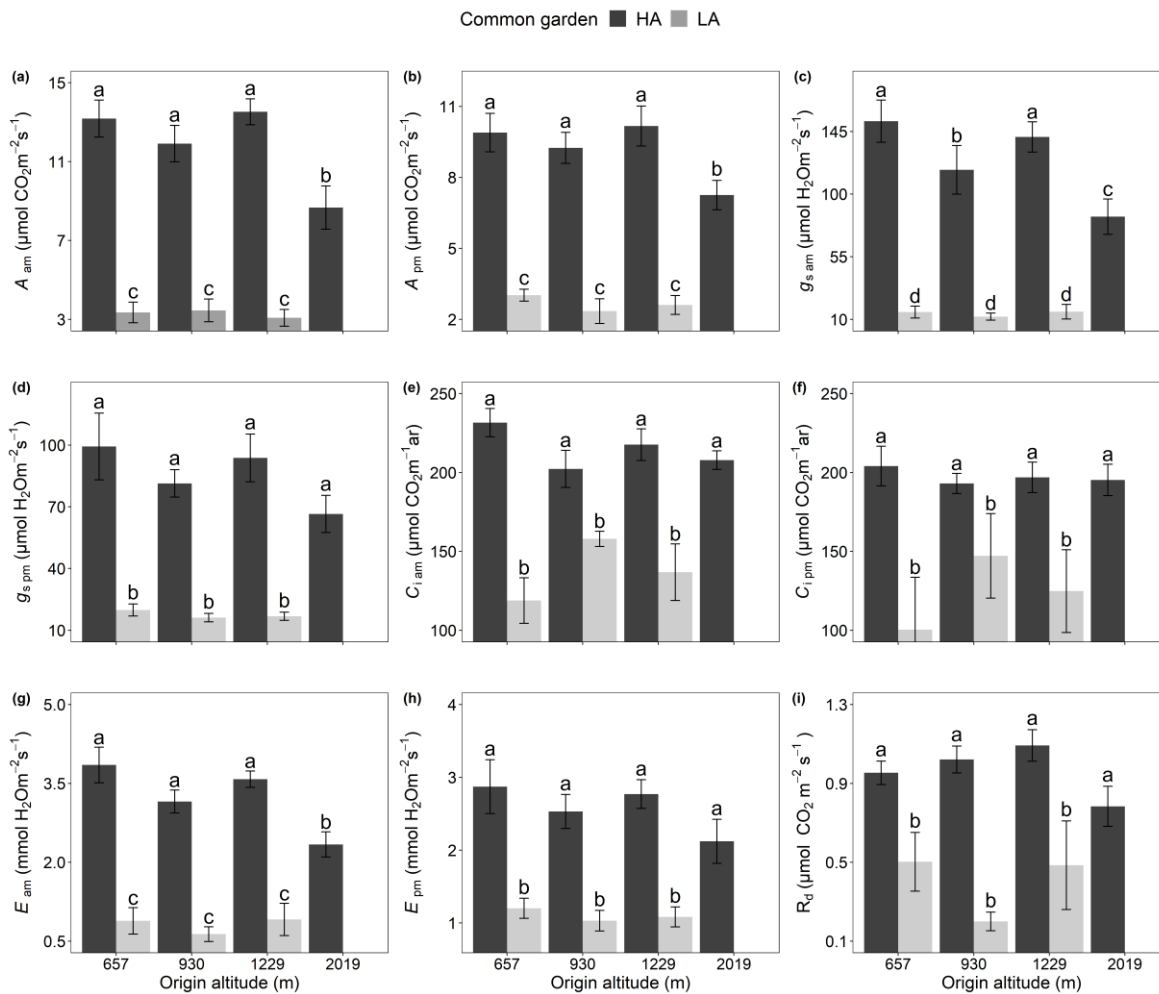


Figura 7. Variação na taxa de assimilação líquida de CO_2 (A ; **a - b**), condutância estomática (g_s ; **c - d**), concentração intracelular de CO_2 (C_i ; **e - f**), taxa de transpiração (E ; **g-h**) e respiração no escuro (R_d ; **i**) entre sete tratamentos da espécie *Myrsine coriacea* em duas condições de jardins comum. Análises realizadas entre 8h30min-10h30min (am) e 14h30min-16h30min (pm). Letras diferentes indicam diferença significativa entre as populações pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

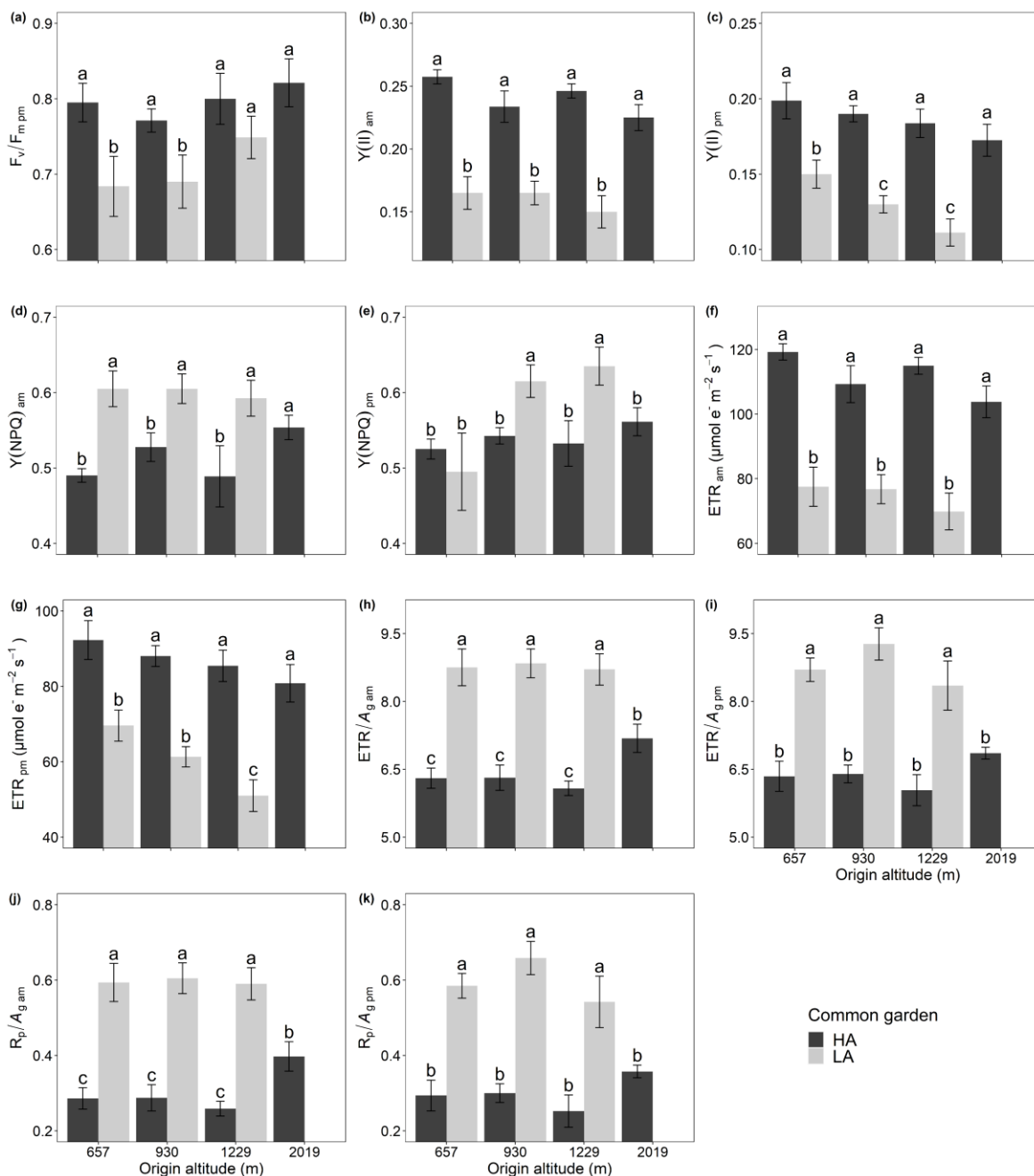


Figura 8. Variação no rendimento quântico potencial do fotossistema II às 4h ($F_v/F_{m\ pm}$; **a**), rendimento quântico efetivo do FSII ($Y(II)$; **b - c**) e dissipação regulada de energia térmica via ciclo das xantofilas ($Y(NPQ)$; **d - e**), taxa de transporte de elétrons (ETR ; **f - g**), razão entre a taxa de transporte de elétrons e a taxa de fotossíntese bruta (ETR/A_g ; **h - i**), razão entre a taxa de fotorrespiração e a taxa de fotossíntese bruta (R_d/A_g ; **j - k**) entre sete tratamentos da espécie *Myrsine coriacea* em duas condições de jardins comum. Análises realizadas entre 8h30min-10h30min (am) e 14h30min-16h30min (pm). Letras diferentes indicam diferença significativa entre as populações pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

4. DISCUSSÃO

Nossos resultados revelam que o padrão de adaptação foi semelhante em plantas que estavam no mesmo jardim comum, com exceção da população 2.019 em HA. Em LA, ocorreu a morte de todos os indivíduos provenientes de 2.019 m, e as demais populações apresentaram ajustes morfológicos que possibilitaram o estabelecimento, mas, conseqüentemente houve o decréscimo das taxas fotossintéticas e de crescimento, resultando em menor desempenho dos indivíduos. Por outro lado, em HA, os ajustes morfológicos garantiram uma maior capacidade fotossintética levando a ganho de desempenho (fotossintético e de crescimento), independente da altitude de origem. Entretanto, indivíduos da população 2.019 em HA apresentou um desempenho inferior em relação aos demais tratamentos neste local.

As condições ambientais encontradas em menores altitudes como o aumento da temperatura e DPV (**Tabela 1**), tendem a intensificar o aumento das taxas transpiratórias em plantas, levando ao desenvolvimento de modificações na morfologia foliar que possibilitam a conservação de água (BRODRIBB; FEILD; JORDAN, 2007) e ocasionam limitações fotossintéticas por limitações hidráulicas. Em plantas localizadas em LA a produção de folhas mais espessas (alta LT) (**Fig. 5f**) levou a diminuição da condutância hidráulica foliar (K_{leaf}) (**Fig. 5i**) e do potencial hídrico (Ψ_w) independente do horário (**Fig. 5g-h**). A diminuição desses dois fatores em decorrência do espessamento foliar, levou a limitações difusivas estomáticas (diminuição da g_s) pela diminuição da capacidade da planta em reidratar os tecidos foliares durante o processo de trocas gasosas.

Ao mesmo tempo que a limitação difusiva promoveu a diminuição do processo de transpiração (**Fig. 7g**) (KAISER, 1987), também ocorreu limitação da fotossíntese (**Fig. 7a-b**) (BRODRIBB; FEILD; JORDAN, 2007). Então, embora tenham apresentado maior g_{wmax} (**Fig. 5n**) (que refere à troca potencial máxima de gás em um estado onde todos os estômatos estão abertos), os indivíduos em LA tiveram uma redução de g_s em ambos os horários (**Fig. 7c-d**), como resposta aos mecanismos de diminuir as perdas de água (FANOURLAKIS et al., 2015; MCELWAIN; YIOTIS; LAWSON, 2016). É importante destacar que, embora as diferenças em g_{wmax} para muitas espécies sejam associadas a diferenças anatômicas de estômatos (DOW; BERGMANN, 2014; FRANKS; BEERLING,

2009), nossos resultados em jardim comum confirmam o encontrado *in situ* para as populações localizadas abaixo de 1.229 m (**Capítulo 1**). Nestas plantas, a diferença na g_{wmax} ocorre como resultado da variação nos valores do coeficiente de difusão do vapor de água no ar (dw) e do volume molar do ar (v) em decorrência da variação de altitude.

A diminuição da A em LA pela diminuição de g_s tem como consequência o aumento do excesso de energia, principalmente no período da tarde (pm). Através dos valores de F_v/F_m pm (**Fig. 8a**) foi possível observar que a absorção da energia luminosa excedeu a demanda energética principalmente para os indivíduos de 657 e 930 em LA. A relação F_v/F_m pode variar numa faixa de 0,75 a 0,85 em plantas em condições ambientais ótimas. O declínio deste valor é um indicador de dano fotoinibitório (BJORKMAN; POWLES, 1984). Com a não utilização do poder redutor produzido na fase fotoquímica, ocorre uma redução da cadeia de transporte de elétrons. Então, os elétrons não utilizados podem levar a formação de espécies reativas de oxigênio potencialmente capazes de resultar em danos fotooxidativos. Demandando maior capacidade de dissipação térmica das plantas através do aumento da $Y(NPQ)$, refletindo o maior *pool* de xantofilas (KRAMER et al., 2004; PONTASCH et al., 2016).

O aumento do $Y(NPQ)$ e a regulação do transporte linear de elétrons pelo citocromo $b6/f$ depende do aumento do gradiente de prótons (ΔpH) na membrana do tilacóide gerado pelo transporte de elétrons para o processo fotossintético. No entanto, deve-se levar em consideração que o ΔpH excessivo pode gerar efeitos negativos na fotossíntese, afetando também a relação $NADPH/ATP$ e levando a consequências nas funções metabólicas. Então, altos valores de $Y(NPQ)$ podem servir como respostas protetoras de curto prazo, mas não como um mecanismo de aclimação de longo prazo (KRAMER; EVANS, 2011; KRAMER et al., 2004). Esse aumento da $Y(NPQ)$ (**Fig. 8d-e**) e menor ETR (**Fig. 8f-g**), evidenciam a existência de fotoinibição dinâmica da fotossíntese, causada pelo desvio da energia luminosa absorvida em direção a dissipação de calor (PONTASCH et al., 2016). Embora a alta ETR/A_g (am e pm) (**Fig. 8h-i**) demonstre que a cadeia de transporte de elétrons (mesmo com a diminuição da ETR) foi maior que a assimilação bruta de carbono, ocorrendo maior pressão oxidativa. E mesmo não ocorrendo diferenças em R_p , observamos através da relação R_p/A_g (am e pm) que o processo fotorespiratório em LA

foi maior que a fotossíntese bruta. Assim, uma maior fração de poder redutor foi utilizada pela R_p (aproximadamente 50% em relação a HA).

Já para os tratamentos localizados em HA, mesmo com menor g_{wmax} , os maiores valores g_s (**Fig. 7c-d**) possivelmente ocorreram como forma de manutenção das taxas fotossintéticas devido o decréscimo da pCO_2 , e isso levou ao aumento da A (**Fig. 7a-b**) e E (**Fig. 7g-h**) (KÖRNER, 2007; LEUSCHNER, 2000). Confirmando nossa primeira hipótese que postulou que, os indivíduos terão maior fotossíntese líquida quando cultivadas em jardim comum na maior altitude independentemente da altitude da população de origem. O aumento das taxas transpiratórias e ausência de investimento em características foliares associadas com o uso conservado da água, indicam que a água pode não ser o fator mais limitante (ROSADO-SOUZA et al., 2015; VITÓRIA; ALVES; SANTIAGO, 2019). Os dados de análise de solo (**Tabela 1**) indicam que, aumentar as taxas transpiracionais pode ser uma alternativa ao aumento da assimilação de nutrientes, devido à baixa concentração de potássio (K) e ausência de Sódio (Na) neste ambiente. Embora o sódio seja considerado tóxico para as plantas (MUNNS, 2002), plantas em solos com deficiência de potássio serão menos afetadas em solos que apresentem pequena concentração de sódio (ALMEIDA et al., 2010). Assim, aumentar as taxas transpiracionais pode ser uma alternativa que também busque o aumento da assimilação de potássio.

Por outro lado, o aumento de acúmulo de açúcar solúvel devido ao aumento da A em HA, levou ao aumento no *pool* de substrato para utilização na R_d , como já relatado por LEWIS et al. (2011) para seis espécies de *Eucalyptus* nativas em condições de jardim comum. Assim, plantas localizadas em HA foram indivíduos onde os maiores ganhos fotossintéticos estiveram associados a maiores perdas (E e R_d), mas, com um maior incremento em biomassa em altura do caule (**Fig. 5b**). A diminuição de NA (**Fig. 5b**) em maiores altitudes, pode estar associada a diminuição do número de folhas geralmente encontrado nessas regiões que pode ocorrer em decorrência do baixo crescimento celular pela diminuição de temperatura e/ou mecanismos de proteção ao aumento da E (VELAZQUEZ-ROSAS; MEAVE; VAZQUEZ-SANTANA, 2017). Como as folhas se originam do meristema apical do caule presente nos ápices caulinares, a diminuição dessas estruturas vai afetar diretamente a quantidade de regiões de brotos para a formação de folhas (MEDFORD, 1992).

Já a mortalidade de plantas provenientes de 2.019 em LA, e menor desempenho (fotossintético e de crescimento) em comparação aos demais tratamentos localizados em HA, deixam claro a existência de alelos adaptativos (adaptação local) nesta população. Isto confirma em parte a segunda hipótese, na qual postulou que, populações teriam desempenho diferente considerando a grande variação ambiental observada nas populações naturais independente da altitude do jardim comum. Entretanto, este comportamento demonstrou ser exclusivo para indivíduos localizados acima de 1.229 m de altitude. Já é exposto na literatura que nos extremos altitudinais devido à deriva genética causada por limitações no fluxo gênico, o tamanho da população e os efeitos fundadores, ocorre a redução da variação genética, levando ao aumento na diferenciação das populações. Ao contrário de populações que ocorrem em altitudes medianas onde uma maior variação genética seria mantida, permitindo uma maior capacidade de respostas (GONZALO-TURPIN; HAZARD, 2009; KÖRNER, 2021; OHSAWA et al., 2007; OHSAWA; IDE, 2008).

Mesmo não sendo possível medir a capacidade fotossintética e crescimento de 2.019 em HA, podemos inferir que a mortalidade ocorreu pelo menor desempenho fotossintético. A existência de alelos adaptativos para as condições de alta altitude, impossibilitou que estes indivíduos desenvolvessem estratégias para responder as condições ambientais em baixas altitudes. Algumas evidências que sustentam esta possibilidade é o fato da população 2.019 em HA ter apresentado características de SLA, tamanho estomático e TD com o mesmo padrão encontrado em plantas adultas *in situ* (**Capítulo 1**). Apresentando diminuição da SLA e tamanho estomático, com aumento da TD. Assim podemos afirmar que se tratam de características fixadas geneticamente em *M. coriacea* para plantas acima de 1.229 m de altitude. Esse padrão de respostas em função de variações genéticas do local de origem em condições de jardim comum já foram descritos para espécies como *Festuca eskia* (GONZALO-TURPIN; HAZARD, 2009) e *Quercus pannosa* (LI et al., 2006).

Em condições de jardim comum, diferente do resultado obtido com as populações nativas, a diminuição do tamanho esteve associada ao aumento da SD. Embora não tenha causado modificações na g_{wmax} e/ou melhora nas trocas gasosas e aumento da eficiência no uso da água como ocorreu *in situ* devido a diminuição no tamanho dos estômatos, em condições de HA a alteração de tamanho e

densidade estomática pode estar associada a aumentar a área total de poros e fornecer um caminho de difusão mais curto por diminuir a profundidade dos poros (FRANKS; FARQUHAR, 2007; FRANKS; BEERLING, 2009), e assim permitir a manutenção das trocas gasosas em HA por ser uma condição mais próxima a sua condição natural. Além disso, a diminuição do tamanho estomático pode proporcionar uma abertura ou fechamento mais rápido dos estômatos (FRANKS; BEERLING, 2009; LAWSON; BLATT, 2014), permitindo fluxos mais rápidos de íons e levando a mudanças mais rápidas no turgor da célula guarda (VIALET-CHABRAND; LAWSON, 2019). Esta por sua vez seria uma forma de tentar compensar a diminuição da fotossíntese em consequência da limitação hidráulica pela formação de folhas mais grossas e diminuição da condutância hidráulica foliar (K_{leaf}) (BRODRIBB; FEILD; JORDAN, 2007). A conservação do padrão foliar de folhas mais grossas (menor SLA e maior LT) sem modificação em características de venação, influenciam na diminuição da condutância hidráulica foliar (K_{leaf}) e, conseqüentemente, menor g_s o que acarreta em menor fotossíntese (BRODRIBB; FEILD; JORDAN, 2007). No entanto, limitações estomáticas foram observadas apenas no período da manhã, sem modificações na C_i , enquanto que a diminuição da A , ocorreu em ambos os horários. Isso indica que, os fatores associados a diminuição da fotossíntese não estão totalmente associados ao funcionamento estomático (KÖRNER; DIEMER, 2006; KÖRNER et al., 2009).

Este comportamento fotossintético de 2.019 em HA também pode ser em resposta aos fatores genéticos (PŠIDOVÁ et al., 2018). Já foi descrito na literatura que embora o mecanismo de dissipação térmica através da ativação do ciclo das xantofilas ($Y(NPQ)$) seja considerada uma resposta protetora de curto prazo (KRAMER; EVANS, 2011; KRAMER et al., 2004), plantas acima de 900 metros tendem a ativar este mecanismo de dissipação independente da condição ambiental (PONTASCH et al., 2016). Os indivíduos de 2.019 em HA, mesmo com a $Y(II)$ igual aos demais tratamentos em HA, apresentaram aumento na dissipação energética em forma de calor e aumento na relação $ETR/A_g (am)$, assim como da R_p/A_g mesmo com CO_2 intracelular disponível para o processo fotossintético, diminuindo a capacidade fotossintética desses indivíduos.

5. CONCLUSÃO

A existência de alelos adaptativos em plantas originadas de 2.019 m, levou a mortalidade desses indivíduos em LA, e menor desempenho (fotossintético e de crescimento) em comparação aos demais tratamentos localizados em HA. Indivíduos de 2.019 em HA apresentaram características foliares e estomáticas encontradas *in situ*, como diminuição da área foliar específica, tamanho estomático e aumento da densidade de tricomas. Isso faz com que estes indivíduos percam a capacidade de responder às condições ambientais em um mundo em mudanças.

As modificações na morfologia foliar que levaram a conservação de água em LA das populações 657,930 e 1.229, resultaram em diminuição de condutância estomática (g_s) levando a diminuição das taxas fotossintéticas. A diminuição das taxas fotossintéticas gerou um aumento do excesso de energia e fotoinibição dinâmica da fotossíntese, causada pelo desvio da energia luminosa para o processo de dissipação de calor. Então, por mais que o aumento de temperatura seja benéfico para aumentar a condutância estomática máxima em plantas de *M. coriacea*, modificações morfológicas para evitar a perda hídrica vão levar a diminuição da fotossíntese e aumentar os riscos de fotoinibição pelo aumento da pressão oxidativa.

Em HA, devido o decréscimo da pCO_2 , as plantas tendem a apresentar maior g_s , o que acarretou em maior capacidade de aproveitamento fotossintético. E embora o aumento de g_s tenham aumentado os gastos energéticos em HA, eles não foram suficientes para prejudicar o desempenho (fotossintético e de crescimento), garantindo um melhor desempenho como o aumento da altitude independente da altitude de origem.

Assim concluímos que, como o avanço das mudanças climática e aumento de temperatura em regiões de Floresta Atlântica, considerando a espécie *M. coriacea*, populações situadas até 1.229 m de altitude apresentam capacidade de resposta às condições ambientais, embora o aumento de temperatura acarrete em diminuição do desempenho fotossintético e de crescimento. Com base em nossos dados, ainda não podemos afirmar se essas populações irão conseguir responder e sobreviver durante longos períodos de aumento de temperatura. A maior vantagem de sobrevivência de *M. coriacea* possivelmente será em altitudes intermediárias (por volta de 900 m de altitude). E devido a existência de alelos

adaptativos, populações localizadas por volta de 2.000 m serão as mais impactadas com o aumento de temperatura, podendo levar a morte desses indivíduos.

6. REFERÊNCIAS

- ALEIXO, Alexandre *et al.* Mudanças Climáticas e a Biodiversidade dos Biomas Brasileiros: Passado, Presente e Futuro. *Natureza e Conservação*, v. 8, n. 2, p. 194–196, 2010.
- ALEXANDER, Jake M.; DIEZ, Jeffrey M.; LEVINE, Jonathan M. Novel competitors shape species' responses to climate change. *Nature*, v. 525, n. 7570, p. 515–518, 2015.
- ALMEIDA, Julio Cesar Raposo *et al.* A positive growth response to NaCl applications in Eucalyptus plantations established on K-deficient soils. *Forest Ecology and Management*, v. 259, n. 9, p. 1786–1795, 2010.
- ALVARES, Clayton Alcarde *et al.* Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2013.
- ANDERSON, Marti J. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Austral Ecology*, n. 26, p. 32–46, 2001.
- ANDERSON, Marti J. Distance-Based Tests for Homogeneity of Multivariate Dispersions. *Biometrics*, v. 62, p. 245–253, 2006.
- BARNOSKY, Anthony D. *et al.* Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature*, v. 471, n. 7336, p. 51–57, 2011.
- BEREND, Kevin; HAYNES, Kristen; MACKENZIE, Caitlin Mc Donough. Common garden experiments as a dynamic tool for ecological studies of alpine plants and communities in northeastern north america. *Rhodora*, v. 121, n. 987, p. 174–212, 2019.
- BJORKMAN, Olle; POWLES, Stephen B. Inhibition of photosynthetic reactions under water stress: interaction with light level. *Planta*, v. 161, p.490-504, 1984.
- BLANQUART, François *et al.* A practical guide to measuring local adaptation. *Ecology Letters*, v. 16, n. 9, p. 1195–1205, 2013.
- BRAGA, Fabíola Mendes *et al.* Review: Growth of C3 and C4 plants in response to different CO₂ concentrations. *Research, Society and Development*, v. 10, n. 7, p. e33810716701, 2021.
- BRESSON, Caroline C. *et al.* To what extent is altitudinal variation of functional traits driven by genetic adaptation in European oak and beech? *Tree Physiology*, v. 31, n. 11, p. 1164–1174, 2011.
- BRODRIBB, Tim J.; FEILD, Taylor S.; JORDAN, Gregory J. Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiology*, v. 144, n. 4, p. 1890–1898, 2007.
- CHAHINE, M. T. *et al.* Satellite remote sounding of mid-tropospheric CO₂. *Geophysical Research Letters*, v. 35, n. 17, p. 1–5, 2008.

CIAIS, Philippe *et al.* Carbon and Other Biogeochemical Cycles. In: STOCKER, T. F., QIN, D., PLATTNER, G.-K.; TIGNOR, M., ALLEN, S. K., BOSCHUNG, J., NAUELS, A., XIA, Y., BEX; V., AND MIDGLEY, P. M. (Org.). *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. New York: IPCC, p. 465-570, 2013.

DE FRENNE, Pieter *et al.* Latitudinal gradients as natural laboratories to infer species' responses to temperature. *Journal of Ecology*, v. 101, n. 3, p. 784–795, 2013.

DOW, Graham J; BERGMANN, Dominique C. ScienceDirect Patterning and processes: how stomatal development defines physiological potential. *Current Opinion in Plant Biology*, v. 21, p. 67–74, 2014.

DUSENGE, Mirindi Eric; DUARTE, André Galvao; WAY, Danielle A. Plant carbon metabolism and climate change: elevated CO₂ and temperature impacts on photosynthesis, photorespiration and respiration. *New Phytologist*, v. 221, n. 1, p. 32–49, 2019.

EMBRAPA. *Manual de Análises de Solos*. Rio de Janeiro: Embrapa, 1997.

FANOURLAKIS, Dimitrios *et al.* Pore size regulates operating stomatal conductance , while stomatal densities drive the partitioning of conductance between leaf sides. *Annals of Botany*, v. 115, p. 555–565, 2015.

FRANKS, Peter J.; FARQUHAR, Graham D. The mechanical diversity of stomata and its significance in gas-exchange control. *Plant Physiology*, v. 143, n. 1, p. 78–87, 2007.

FRANKS, Peter J; BEERLING, David J. Maximum leaf conductance driven by CO₂ effects on stomatal size and density over geologic time. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 106, n. 25, p. 10343–10347, 2009.

GENTY, Bernard; BRIANTAIS, Jean Marie; BAKER, Neil R. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, v. 990, n. 1, p. 87–92, 1989.

GONZALO-TURPIN, Héloïse; HAZARD, Laurent. Local adaptation occurs along altitudinal gradient despite the existence of gene flow in the alpine plant species *Festuca eskia*. *Journal of Ecology*, v. 97, n. 4, p. 742–751, 2009.

IPCC. *Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2007.

IPCC. *Climate Change 2021: The Physical Science Basis*. Cambridge ed. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2021.

JESUS, Shayana De; ARAUJO, Leite De. Frugivoria por aves em *Schinus terebinthifolius* (Anacardiaceae) e *Myrsine coriacea* (Myrsinaceae). *Revista Brasileira de Ornitologia*, v. 15, n. 4, p. 585–591, 2007.

JOHANSEN, D. A. Plant microtechnique. *New York: Mcgraw-Hill Book*, p. 523p, 1940.

KAISER, E. Verfahren zur Herstellung einer tadellosen Glycerin-Gelatine. *Botanische Zentralblatt*, v. 180, p. 25–26, 1880.

KAISER, Werner M. Effects of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiologia Plantarum*, v. 71, n. 1, p. 142–149, 1987.

KÖRNER, Christian.; DIEMER, M. In situ Photosynthetic Responses to Light, Temperature and Carbon Dioxide in Herbaceous Plants from Low and High Altitude. *Functional Ecology*, v. 1, n. 3, p. 179, 2006.

KÖRNER, Christian *et al.* Mountain vegetation under environmental change. *Global Change and Sustainable Development in Mountain Regions. Proceedings of the COST Strategic Workshop April 7-9, 2008, Congress Innsbruck*, v. 7, p. 25–30, 2009.

KÖRNER, Christian. The use of “altitude” in ecological research. *Trends in Ecology and Evolution*, v. 22, n. 11, p. 569–574, 2007.

KÖRNER, Christian. Treelines alpinas. *Alpine Plant Life*. Berlin Heidelberg: Springer, 2021.

KRAMER, David M.; EVANS, John R. The importance of energy balance in improving photosynthetic productivity. *Plant Physiology*, v. 155, n. 1, p. 70–78, 2011.

KRAMER, David M *et al.* New uorescence parameters for the determination of Q. *Biological Chemistry*, p. 209–218, 2004.

LABOURIAU, LG; OLIVEIRA, JG; SALGADO-LABOURIAU, ML. Transpiração de *Schizolobium parahyba* (Vell.) Toledo. I. Comportamento na estação chuvosa, nas condições de Caeté, Minas Gerais, Brasil. *An Acad Bras Ciênc*, v. 33, n. 237–257, p. 1961, 1961.

LAINING, William A.; OGREN, William L.; HAGEMAN, Richard H. Regulation of Soybean Net Photosynthetic CO₂ Fixation by the Interaction of CO₂, O₂ and Ribulose 1,5-Diphosphate Carboxylase . *Plant Physiology*, v. 54, n. 5, p. 678–685, 1974.

LAWSON, Tracy; BLATT, Michael R. Stomatal size, speed, and responsiveness impact on photosynthesis and water use efficiency. *Plant Physiology*, v. 164, n. 4, p. 1556–1570, 2014.

LEGENDRE, R AND LEGENDRE, L. *Numerical Ecology*. Amsterdam:Elsevier, 2012.

LEUSCHNER, Christoph. Are high elevations in tropical mountains arid environments for plants? *Ecology*, v. 81, n. 5, p. 1425–1436, 2000.

LEWIS, James D. *et al.* Leaf photosynthesis, respiration and stomatal conductance in six Eucalyptus species native to mesic and xeric environments growing in a common garden. *Tree Physiology*, v. 31, n. 9, p. 997–1006, 2011.

LI, Chunyang *et al.* Leaf morphological and physiological responses of *Quercus aquifolioides* along an altitudinal gradient. *Silva Fennica*, v. 40, n. 1, p. 5–13, 2006.

MALHI, Yadvinder *et al.* Introduction: Elevation gradients in the tropics: Laboratories for ecosystem ecology and global change research. *Global Change Biology*, v. 16, n. 12, p. 3171–3175, 2010.

MARTINS, Samuel C.V. *et al.* How do coffee trees deal with severe natural droughts? An analysis of hydraulic, diffusive and biochemical components at the leaf level. *Trees - Structure and Function*, v. 33, n. 6, p. 1679–1693, 2019.

MARTINS, Samuel C.V. *et al.* Improving the estimation of mesophyll conductance to CO₂: On the role of electron transport rate correction and respiration. *Journal of Experimental Botany*, v. 64, n. 11, p. 3285–3298, 2013.

MARTINS, Samuel C V *et al.* Understanding the Low Photosynthetic Rates of Sun and Shade Coffee Leaves : Bridging the Gap on the Relative Roles of Hydraulic , Diffusive and Biochemical Constraints to Photosynthesis. *PLoS ONE*, v. 9, n. 4, p. 1–10, 2014.

MCELWAIN, Jennifer C; YIOTIS, Charilaos; LAWSON, Tracy. Using modern plant trait relationships between observed and theoretical maximum stomatal conductance and vein density to examine patterns of plant macroevolution. *New Phytologist*, v. 209, p. 94–103, 2016.

MEDFORD, J. I. Vegetative Apical Meristems. *The Plant Cell*, v. 4, n. September, p. 1029–1039, 1992.

MIDOLO, Gabriele *et al.* Global patterns of intraspecific leaf trait responses to elevation. *Global Change Biology*, v. 25, n. 7, p. 2485–2498, 2019.

MUNNS, Rana. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, v. 25, n. 2, p. 239–250, 2002.

OHSAWA, T. *et al.* Altitudinal genetic diversity and differentiation of *Quercus crispula* in the Chichibu Mountains, central Japan. *International Journal of Plant Sciences*, v. 168, n. 3, p. 333–340, 2007.

OHSAWA, Takafumi; IDE, Yuji. Global patterns of genetic variation in plant species along vertical and horizontal gradients on mountains. *Global Ecology and Biogeography*, v. 17, n. 2, p. 152–163, 2008.

OKSANEN, Jari *et al.* *Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-*

7. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>, 2020

ORT, Donald R *et al.* Global Biogeochemical Cycles photosynthesis models. *Global Biogeochemical Cycles*, p. 1–13, 2015.

PASCOTTO, Márcia C. *Revista Brasileira de Zoologia* 24 (3): 735-741, setembro 2007. v. 24, n. 1984, p. 735–741, 2007.

PENG, Yunke; BLOOMFIELD, Keith J.; PRENTICE, Iain Colin. A theory of plant function helps to explain leaf-trait and productivity responses to elevation. *New Phytologist*, v. 226, p. 1274–1284, 2020.

PEREIRA, A. R.; ANGELOCCII, L. R.; SENTELHAS, P. C. *Agrometeorologia: fundamentos e aplicações práticas. 1ed., Agropecuária: Guaíba, 2002.*

PÉREZ-HARGUINDEGUY, N. *et al.* New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, v. 61, p. 167–234, 2013.

PIGLIUCCI, Massimo. Phenotypic plasticity: beyond nature and nurture. *JHU Press*, p. 2001, 2001.

PONTASCH, S. *et al.* Photoacclimatory and photoprotective responses to cold. *Journal of Phycology*, 2016.

PRATT, Jessica D.; MOONEY, Kailen A. Clinal adaptation and adaptive plasticity in *Artemisia californica*: Implications for the response of a foundation species to predicted climate change. *Global Change Biology*, v. 19, n. 8, p. 2454–2466, 2013.

PŠIDOVÁ, Eva *et al.* Altitude of origin influences the responses of PSII photochemistry to heat waves in European beech (*Fagus sylvatica* L.). *Environmental and Experimental Botany*, v. 152, p. 97–106, 2018.

ROSADO-SOUZA, Laise *et al.* Exploring natural variation of photosynthetic, primary metabolism and growth parameters in a large panel of *Capsicum chinense* accessions. *Planta*, v. 242, n. 3, p. 677–691, 2015.

SACK, L *et al.* The ‘ hydrology ’ of leaves : co-ordination of structure and function in temperate woody species. *Plant, Cell and Environment*, v. 26, p. 1343–1356, 2003.

SACK, Lawren; BUCKLEY, Thomas N. The developmental basis of stomatal density and flux. *Plant Physiology*, v. 171, n. 4, p. 2358–2363, 2016.

SHI, Zuomin *et al.* Altitudinal variation in photosynthetic capacity , diffusional conductance and $\delta^{13}C$ of butterfly bush (*Buddleja davidii*) plants growing at high elevations. p. 722–731, 2006.

SMITH, W. k; JOHNSON, D. M. Biophysical effects of altitude on plant gas exchange. *Biophysical Plant Ecology: Perspectives and Trends. University of California Press, Los Angeles, 2008.*

- SMITH, William K. *et al.* The altitude of alpine treeline: A bellwether of climate change effects. *Botanical Review*, v. 75, n. 2, p. 163–190, 2009.
- SUN, Xiao *et al.* Phenotypic plasticity controls regional-scale variation in *Quercus variabilis* leaf $\delta^{13}\text{C}$. *Trees - Structure and Function*, v. 30, n. 4, p. 1445–1453, 2016.
- TABARELLI, Marcelo *et al.* Challenges and Opportunities for Biodiversity Conservation in the Brazilian Atlantic Forest. *Conservation Biology*, v. 19, n. 3, p. 695–700, 2005.
- TURESSON, GÖTE. The Genotypical Response of the Plant Species To the Habitat. *Hereditas*, v. 3, n. 3, p. 211–350, 1922.
- VALENTINI, R *et al.* In situ estimation of net CO₂ assimilation, photosynthetic electron flow and photorespiration in Turkey oak. *Plant, Cell and Environment*, v. 18, p. 631–640, 1995.
- VAN KOOTEN, Olaf; SNEL, Jan F.H. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosynthesis Research*, v. 25, n. 3, p. 147–150, 1990.
- VELAZQUEZ-ROSAS, Noe; MEAVE, Jorge; VAZQUEZ-SANTANA, Sonia. Elevational Variation of Leaf Traits in Montane Rain Forest Tree Species at La Chinantla, Southern México. *Association for Tropical Biology and Conservation*, v. 34, n. 4, p. 534–546, 2017.
- VIALET-CHABRAND, Silvere; LAWSON, Tracy. Dynamic leaf energy balance: deriving stomatal conductance from thermal imaging in a dynamic environment. *Journal of experimental botany*, v. 70, n. 10, p. 2839–2855, 2019.
- VITÓRIA, Angela Pierre; ALVES, Luciana F.; SANTIAGO, Louis S. Atlantic forest and leaf traits: an overview. *Trees - Structure and Function*, v. 33, p. 1535–1574, 2019.
- WANG, Han *et al.* Photosynthetic responses to altitude: an explanation based on optimality principles. *New Phytologist*, v. 213, n. 3, p. 976–982, 2017.
- WARTON, David I.; WRIGHT, Stephen T.; WANG, Yi. Distance-based multivariate analyses confound location and dispersion effects. *Methods in Ecology and Evolution*, v. 3, n. 1, p. 89–101, 2012.
- WICKHAM, Hadley *et al.* *ggplot2: Create Elegant Data Visualisations Using the Grammar of Graphics*. R package version 3.3.3. <https://CRAN.R-project.org/package=ggplot2>, 2020.
- WILKE, Claus O. *cowplot: Streamlined Plot Theme and Plot Annotations for “ggplot2”*. R package version 1.1.1. <https://CRAN.R-project.org/package=cowplot>, 2020.