

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

HETEROGENEIDADE NOS HABITATS DE *EUGENIA UNIFLORA* L.
(MYRTACEAE) CORRELAÇÃO COM AS VARIAÇÕES NO TAMANHO E
FORMA FOLIAR

MARIA EDUARDA GONÇALVES LACERDA

PORTO ALEGRE

2021

HETEROGENEIDADE NOS HABITATS DE *EUGENIA UNIFLORA* L.
(MYRTACEAE) CORRELAÇÃO COM AS VARIAÇÕES NO TAMANHO E
FORMA FOLIAR

MARIA EDUARDA GONÇALVES LACERDA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Comissão de Graduação do curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do Rio
Grande do sul, como requisito parcial para
obtenção do grau de Bacharela em Ciências
Biológicas.

Manuscrito formatado segundo as regras
editoriais da Revista *Botanical Journal of
Linnean Society*.

Orientador: Dr. Marcelo Costa Teixeira

Coorientadora: Prof^ª. Dra. Andreia Carina
Turchetto-Zolet

PORTO ALEGRE

2021

MARIA EDUARDA GONÇALVES LACERDA

HETEROGENEIDADE NOS HABITATS DE *EUGENIA UNIFLORA* L.
(MYRTACEAE) CORRELAÇÃO COM AS VARIAÇÕES NO TAMANHO E
FORMA FOLIAR

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Comissão de Graduação do curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, como requisito parcial para
obtenção do grau de Bacharela em Ciências
Biológicas.

Aprovado em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dra. Caroline Turchetto

Prof^a. Dra. Karen Luisa Haag

Dr. Marcelo Teixeira

Prof^a. Dra. Andreia Carina Turchetto-Zolet

Dedico este trabalho as três principais mulheres da minha vida, minha vovó **Isaura**, minha mãezinha **Adriana** e minha tiadinha **Fernanda**, estas sem as quais eu não existiria, donas do meu mais simples e puro amor, sou grata por me amarem sem medidas e me ensinarem a experienciar o mundo com sabedoria, alegria e coragem; aos meus avôs **Francisco** e **Luiz** (in memoriam), e meus pais **Rafael** e **Denilson** por me cuidarem como um xodó. Ao meu irmão **Rafael Junio** meu fiel companheiro de noites de estudo pré-vestibular, e ao meu anjo **Luis Gustavo** (in memoriam), pessoas que com suas vidas ainda que em meio as dificuldades me inspiram a ter fé e ousadia para sonhar alto.

AGRADECIMENTOS

Ser grata é uma virtude que admiro e certamente existem muitas pessoas que devo meus sinceros sentimentos de gratidão. Acredito que somos e estamos conectados com aquelas que estiveram e se fizeram presente de modo passageiro ou constante na nossa vida, que nos permearam e fazem parte de que somos.

Assim agradeço a minha **família** que mesmo estando a quase 2 mil km de distância física sempre se fizeram presente e viveram meus sonhos, comigo, me inspirando, amando e sendo meu porto seguro.

Aos meus orientadores **Andreia** e **Marcelo** por todo carinho, paciência e desprendimento direcionado em fazer de mim uma jovem pesquisadora de qualidade, me ajudando, ensinando, e orientando nessa etapa, além disso por acreditarem e nutrirem minhas curiosidades.

Ao **Fabiano**, sem o qual não seriam possíveis as coletas, nesse momento de pandemia, pelo entusiasmo e ajuda prontamente.

Ao grupo de pesquisa **GENP** pelos momentos de amizade, auxílio técnico e emocional durante meu processo formativo, em especial a **Nick**.

A **UFRGS/PRAE** pelos auxílios financeiros de manutenção da minha existência na universidade.

Aos amigos que me acolheram na chegada em Porto Alegre e que se tornaram minha família: **Isa, Juju, Irmã Maria Aparecida, Daniel, Rafa, Vih, Sara e família, Paola, Alê e sua mãe, Lari e Alicia, Luiz, Will, Laura, Naty, Lucas, Julia, Andreia, Maria, João, Iuri, Canova e Bia**.

A minha namorada **Duda** pela paciência e cuidado comigo durante o desenvolvimento deste trabalho, por dividir alegrias, tristezas e me devolver a calma quando eu estava desorganizada e estressada.

A minha psicoterapeuta **Débora**, por me ajudar a desenrolar e organizar minhas ideias e sentimentos.

Parafraseando um cantor que admiro, “Com a fúria da beleza do sol, somos maior, nos basta só sonhar, seguir...!” (Emicida)

Muito obrigado!

Heterogeneity in the Habitats of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) correlation with variations in leaf size and shape

MARIA EDUARDA GONÇALVES LACERDA¹, ANDREIA CARINA TURCHETTO-ZOLET², FABIANO SALGUEIRO³, MARCELO COSTA TEIXEIRA²

¹*Graduação em Ciências Biológicas, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.*

²*Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Goncalves 9500, 91501970 Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil*

³*Departamento de Botânica, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO), Av. Pasteur 458, 22290-255 Rio de Janeiro, Brasil*

Contato do autor. E-mails: maed.lacerda@gmail.com ou 00290210@ufrgs.br

Manuscrito formatado segundo as regras editoriais da Revista *Botanical Journal of Linnean Society*.

As tabelas e figuras seguem em arquivos individuais para melhor organização de leitura.

1 **Heterogeneidade nos Habitats de *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) correlação com**
2 **variações no tamanho e forma foliar**

3
4 **RESUMO:**

5
6 *Eugenia uniflora* é nativa do Domínio Floresta Atlântica (AFD) e pode ser encontrada
7 crescendo naturalmente nos distintos ambientes que compõe a AFD. Nos diversos habitats em
8 que esta espécie ocorre, ela apresenta morfologias distintas bastante aparente. Cresce como um
9 arbusto ou pequena árvore na vegetação de planície costeira arenosa próxima ao oceano no
10 sudeste e nordeste do Brasil (restinga adjacente) e como uma árvore nas matas ciliares na parte
11 sul da AFD. Comunidades vegetais na periferia da AFD estão mais sujeitas a condições
12 ambientais extremas em contraposição as plantas de floresta ombrófila densa. As populações
13 de *E. uniflora* são fortemente estruturadas com haplótipos diferentes em suas frequências,
14 podendo ser associados aos ambientes distintos, tal associação é relevante ora que as plantas
15 podem expressar morfologias como resposta genética de adaptação ao habitat que se encontra.
16 Desta maneira a forma e o tamanho das folhas foram analisados através de morfometria
17 geométrica, construindo bibliotecas de 54 imagens de exsicatas ao longo da ocorrência da
18 espécie na AFD, 41 imagens de plantas coletadas na natureza em dois ecossistemas (restinga
19 adjacente e mata ciliar) da AFD e 54 imagens de plântulas provenientes dos mesmos ambientes
20 das matrizes crescidas em casa de vegetação. Os resultados das análises apontaram uma
21 diferenciação da forma e tamanho da folha de *E. uniflora* de acordo com sua ocorrência nos
22 diferentes ambientes na AFD, plantas de restinga frequentemente possuem folhas com base
23 arredondada e ápice obtuso e são maiores, plantas de mata ciliar possuem folhas com base
24 atenuada e ápice agudo e de menor tamanho. Os resultados morfológicos da folha refletem o
25 padrão das duas linhagens evolutiva da parte sul e norte da AFD identificadas a partir de
26 marcadores neutros plastidiais. A variabilidade alélica entre as populações e as diferenças
27 genéticas, corroboram para a aceitação de que possa estar ocorrendo a separação da espécie em
28 variedades com características genéticas adaptativas selecionadas por pressões ambientais.

29
30 **PALAVRAS-CHAVE ADICIONAIS:** pitanga – mata ciliar – restinga - variação morfológica
31 - adaptação evolutiva.

32
33
34
35
36
37

38 **Heterogeneity in the Habitats of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) correlation with**
39 **variations in leaf size and shape**

40

41 **ABSTRACT:**

42

43 *Eugenia uniflora* is native to Atlantic Forest Domain (AFD) and can be found growing naturally
44 in the different environments that make up the AFD. In the diverse habitats in which this species
45 occurs, it presents distinct morphologies quite apparent. It grows as a shrub or small tree in the
46 sandy coastal plain vegetation close to the ocean in southeastern and northeastern Brazil
47 (restinga) and as a tree in riparian forests in the southern part of the AFD. Plant communities
48 on the periphery of the AFD are more subject to extreme environmental conditions than plants
49 from dense rainforests. *Eugenia uniflora* populations are strongly structured with different
50 haplotypes in their frequencies, which can be associated with different environments. Thus, the
51 shape and size of the leaves were analyzed using geometric morphometric, building libraries of
52 54 images of exsiccated throughout the occurrence of the species in the AFD, 41 images of
53 plants collected in nature in two ecosystems (adjacent sandbank and riparian forest) of the AFD
54 and 54 images of seedlings from the same environments as the matrices grown in a greenhouse.
55 The results of the geometric morphometric analysis showed differentiation in the shape and size
56 of the *E. uniflora* leaf according to its occurrence in different environments in AFD, restinga
57 plants often have leaves with rounded base and obtuse apex and larger, ciliary forest plants have
58 leaves with attenuated base shape and acute apex and smaller size. The morphological results
59 of the leaf reflect the pattern of the two evolutionary lines of the southern and northern part of
60 the AFD identified from neutral plastid markers. The allelic variability between populations
61 and genetic differences corroborate supposition to accept that species may be separated into
62 varieties with adaptive genetic characteristics selected by environmental pressures.

63

64 **KEYWORDS:** Pitanga – Restinga – Riparian Forest – variations in morphometric - adaptive
65 evolution.

66

67

68

69

70

71

72

73

74

75

INTRODUÇÃO

76

77

78 A América do Sul é um dos principais centros de biodiversidade da Terra, abrigando em
79 seu território 'hotspots' que representam 2% da biodiversidade do planeta (Myers et al., 2000).
80 A vasta variedade de formas e habitats biológicos no continente possui relação direta com as
81 biogeografias que compõem seus biomas e/ou ecorregiões (Morrone 2006, 2014). Atrás apenas
82 do Domínio Amazônico, o Domínio Floresta Atlântica, (AFD: Atlantic Florest Domain) (Joly
83 et al., 1999) possui a segunda maior florestas tropical úmida da América do Sul, porém sua
84 definição deve ser abrangente pois engloba em seu território florestas tropicais, semidecíduas e
85 subtropicais meridionais (Oliveira-Filho & Fontes 2000). Comunidades vegetais podem estar
86 sujeitas a condições ambientais distintas de acordo com sua localização na AFD, assim como a
87 sobrevivência da espécie pode se relacionar diretamente as capacidades de ocupação de mais
88 de um nicho fitogeográfico no domínio (Turchetto-Zolet et al., 2013; Scarano et al., 2002,
89 2009). Comunidades na periferia do AFD estão mais sujeitas a condições ambientais extremas
90 em contraposição as plantas de floresta ombrófila densa, como por exemplo, em ambientes de
91 restinga, a seca, salinidade, baixo teor de nutrientes são fatores limitantes para populações ali
92 estabelecidas (Lacerda et al., 1993). Neste contexto é natural que esperemos observar que
93 espécies amplamente distribuídas no AFD possam apresentar variações morfológicas
94 selecionadas ao longo de suas histórias evolutivas ou por plasticidade fenotípica.

95 *Eugenia uniflora* L., popularmente conhecida no Brasil como pitanga, pertence a
96 Myrtaceae (Govaerts et al., 2011), uma das famílias de angiospermas mais ricas em espécies
97 do Neotrópico. Nativa da América do Sul possui ampla distribuição geográfica, ocupando
98 ambientes tropicais, subtropicais no AFD (Oliveira-Filho & Fontes, 2000) e ainda ecossistema
99 de restinga adjacente (Scarano, 2002). *Eugenia uniflora* ocorre no Brasil, do Rio Grande do Sul
100 até Pernambuco, bem como ao nordeste da Argentina, Uruguai e Paraguai (Fig. S1). É uma
101 espécie que se desenvolve em diversos habitats e apresenta morfologias distintas bastante
102 aparente, de acordo com o ambiente que se localiza. Apresenta-se com arbusto ou pequena
103 árvore na vegetação de planície costeira arenosa com influência marinha no sudeste e nordeste
104 do Brasil (restinga adjacente) ou como árvore na parte sul da Floresta Atlântica (floresta
105 ombrófila densa, pastagem estepária, formação pioneira e matas ciliares) (Oliveira-Filho &
106 Fontes, 2000; Almeida, Faria & Da Silva, 2012; Lucas & Bungler, 2015). Ao longo de sua
107 distribuição geográfica *E. uniflora* aparenta ter morfologia foliar não uniforme, facilmente
108 observáveis em campo e mantidas mesmo quando cultivadas em casa de vegetação (Margis et
109 al., 'unpubl. data'), desta maneira emergem-se questionamentos sobre a quantificação da forma

110 das diferenças observadas visualmente e quais seriam os mecanismos por detrás dessa
111 expressão na morfologia das pitangueiras.

112 Historicamente a região chamada ‘Portal de Torres’, localizada aproximadamente entre
113 29° e 30°S, é reconhecida como uma importante barreira fitogeográfica (Rambo, 1950). Estudos
114 prévios revelaram um interessante padrão de dinâmica e evolução populacional para *E. uniflora*
115 na Mata Atlântica, nos quais a espécie apresenta alta variabilidade genética entre as populações
116 em nível regional e um limitado fluxo gênico ao sul da distribuição (abaixo do portal de Torres-
117 RS), contraposto as populações ao norte da distribuição (acima do portal de Torres-RS) que
118 possuem baixa variabilidade (Margis et al. 2002, Salgueiro et al. 2004, Turchetto-Zolet et al.
119 2016). As populações de *E. uniflora* são fortemente estruturadas com haplótipos diferentes em
120 suas frequências, podendo ser associados a ambientes distintos, como as áreas de restinga no
121 sudeste e nordeste da distribuição e a áreas florestais no sul da distribuição, características
122 genéticas estas usadas na elaboração da hipótese evolutiva da espécie, a qual sugere duas
123 linhagens evolutivas principais para *E. uniflora* com divergência de 4.6 Myr. (Turchetto-Zolet
124 et al., 2016). Um estudo recente que se encontra em fase de avaliação aos pares (Veto et al.
125 ‘unpubl. data’) analisou marcadores SNPs (Polimorfismos de nucleotídeo único) em populações
126 de *E. uniflora* provenientes de ambientes de restinga/norte e florestais/sul e demonstrou o
127 mesmo padrão de estruturação e diversidade genética. Além disso, o estudo identificou uma
128 série de SNPs associados a características ambientais como temperatura e pluviosidade,
129 sugerindo fortes indícios para a adaptação local dessas populações. Esses estudos fizeram
130 importantes contribuições para a compreensão da história evolutiva dessa espécie e corroboram
131 com a ideia de que *E. uniflora* é um bom modelo para estudos de variação adaptativa como uma
132 resposta ambiental. Apesar de todas as contribuições feitas por esses estudos, ainda temos várias
133 questões em aberto para entendermos por completo a história dessa espécie bem como a história
134 da Floresta Atlântica.

135 A morfometria geométrica (MG) permite estudar a forma de um organismo como um
136 todo e almeja não somente quantificar as formas biológicas, mas ainda fazer inferências sobre
137 as causas que levam as diferenças entre forma e tamanho. (Monteiro & Reis, 1999). Estudos de
138 quantificação da forma dos organismos podem ser relacionados a variação geográfica
139 intraespecífica, taxonomia, sistemática e evolução de caracteres morfológicos (Marcus et al.,
140 1996; Zelditch et al., 2004), possibilitando inferências métricas de que os fatores ecológicos
141 podem ter forte influência na aptidão de determinadas populações naturais. Nas análises de
142 morfometria geométrica a forma é resumida por meio de coordenadas cartesianas de pontos de
143 referência selecionados (Walker, 2000), sendo que os marcos morfológicos homólogos

144 (*landmarks*) ou semi homólogos podem ser utilizados em uma população de imagens
145 comparáveis, padronizáveis, fornecendo dados brutos para análises multivariadas de forma e
146 em contextos evolutivos (Slice, 2007).

147 Este trabalho investiga as características morfológicas das folhas de *E. uniflora*
148 integrando dados de sua distribuição geográfica, variação genética, e história evolutiva a
149 morfometria geométrica, a fim de responder especificamente as questões: (1) As folhas de *E.*
150 *uniflora* depositadas em herbários ao longo dos anos, possuem alguma diferença morfológica
151 significativa? (2) Podemos associar as diferentes formas encontradas na natureza as ecorregiões
152 pertencentes e aos haplótipos identificados? (3) Plantas cultivadas em ambiente controlado
153 demonstram padrões foliares semelhantes as populações coletadas na natureza?

154 MATERIAIS E MÉTODOS

155 SÍTIOS DE COLETA E AMOSTRAGEM

156 Previamente conhecida a distribuição geográfica de *E. uniflora*, as populações ao longo da
157 distribuição foram divididas em Norte/restinga e Sul/mata ciliar como base referencial o
158 trabalho de filogeografia de *E. uniflora* (Turchetto-Zolet et al., 2016), determinando população
159 Norte pela mudança mais abrupta das características geográficas acima do portal de Torres-RS,
160 localizado aproximadamente entre 29° e 30°S, e reconhecido historicamente como uma
161 importante fronteira fitogeográfica (Rambo, 1950), e população Sul abaixo do portal de Torres
162 (Fig. 1). Os exemplares foram coletados em três etapas: 1. Pesquisa por exsicatas da espécie
163 em acervos de 14 herbários virtuais que disponibilizam online imagens representativas de
164 populações na determinação Norte e Sul da distribuição (Table S2); 2. Utilizando-se de
165 espécimes germinados e crescidos na casa de vegetação do Departamento de Genética da
166 Universidade Federal do Rio Grande do Sul, sob condições semelhantes de clima e solo que
167 são indivíduos representantes de dois ambientes extremos (norte/restinga e sul/mata
168 ciliar/floresta atlântica lato sensu) de ocorrência da espécie; e 3. Coleta de material em campo
169 de duas populações em ambiente natural semelhante aos espécimes da casa de vegetação em
170 seu local de ocorrência no ambiente natural. As populações dos extremos de ocorrência foram
171 coletadas na região Norte/restinga em Praia Seca no Rio de Janeiro (22°56'11" S - 42°18'39"
172 W) e na região Sul/mata ciliar no município de Seberi no Rio Grande do Sul (27°19'12" S -
173 53°19'48" W). Em todas as etapas de coleta foi coletado no mínimo uma folha por
174 indivíduo/planta, atentando-se por coletar folhas bem conservadas em suas extremidades
175 latitudinais e verticais, e que visualmente representassem a forma da planta em geral.

176 AQUISIÇÃO DE IMAGENS DAS FOLHAS

177 As exsicatas foram recuperadas por meio de busca e captação das coordenadas geográficas e as
178 imagens oriundas da varredura nos herbários virtuais, resgatadas através das plataformas de
179 dados: Species Link (<http://splink.cria.org.br>; Abril 2021) e Global Biodiversity Information
180 Facility (<http://www.gbif.org>; Abril 2021), utilizando-se os filtros iniciais: ((genus = [Eugenia
181] and species = [uniflora])) and (basisofrecord = [preservedspecimen]) and [image and
182 consistente and geori], em seguida os resultados da primeira filtragem foram submetidos a uma
183 segunda etapa de filtro levando em consideração identificador/denominador, o herbário em que
184 a exsicata está depositada (selecionando exclusivamente herbários nacionais), eliminados
185 registros com coordenadas idênticas, e selecionando as exsicatas o mais próximo possível dos
186 pontos de ocorrência das populações referenciadas no trabalho de filogeografia da espécie.
187 Todos esses parâmetros servem para eliminar possíveis efeitos de má identificação, qualidade
188 do material e tender a uma maior confiabilidade dos dados. Foram construídos a partir dos
189 espécimes da casa de vegetação 53 imagens exemplares (20 provenientes de sementes oriundas
190 de ambiente de mata ciliar [4 plantas diferentes] coletadas no município de Seberi/(RS) e 33 de
191 ambiente de restinga adjacente [5 plantas diferentes] das populações de Praia Seca/(RJ), a coleta
192 dos frutos para extração da semente e semeadura foram realizadas nos anos de 2016-2017. As
193 coletas diretamente nas populações progenitoras foram realizadas em outubro de 2021,
194 totalizando 43 exemplares de restinga adjacente e mata ciliar, 26 e 15 plantas respectivamente.
195 As imagens das folhas foram confeccionadas obedecendo os critérios de padronização
196 recomendados na literatura e com a ajuda de colaboradores por escaneamento. Todas as
197 imagens, exsicatas recuperadas de ambientes de mata ciliar (EXSMC) e restinga (EXSRES),
198 cultivados em casa de vegetação (CVMC, CVRES) e coletados diretamente em ambiente
199 natural (NATMC e NATRES) foram padronizadas em escala e ao menos uma folha foi
200 posicionada com a parte adaxial voltada para a luz do scanner, construindo desta forma
201 bibliotecas de imagens com um total de 150 exemplares/plantas. (Tabela S1).

202

MORFOMETRIA FOLIAR

203 A forma e o tamanho das folhas foram analisados através de morfometria geométrica.
204 Trabalhou-se com as imagens das bibliotecas construídas. O arquivo TPS com todas as imagens
205 foi gerado utilizando o TPSUtil v.1.38 (Rohlf, 2015). Ainda no software TPS, utilizando o
206 pacote TPSDig2 digitalizou-se manualmente os marcos anatômicos. Sendo estes distribuídos a
207 fim de cobrir toda a circunferência da face adaxial da folha. Um total de 16 marcos anatômicos
208 por folha/indivíduo foi marcado, sendo o primeiro na inserção do limbo ao pecíolo o segundo
209 no ápice foliar e os demais equidistantes cobrindo a borda foliar (Fig. 2). As coordenadas

210 bidimensionais dos marcos anatômicos foram sobrepostas com uma Análise de Procrustes
211 Generalizada (GPA; Rohlf & Slice, 1990) para minimizar os efeitos de orientação, posição e
212 escala de imagens individuais. A simetria não foi imposta a nenhuma amostra para permitir a
213 detecção de variação entre as folhas. Os marcos resultantes da análise de GPA foram
214 submetidos a um diretor de Análise de Componentes (PCA; Jolliffe, 2002) usando o pacote
215 MorphoJ (Klingenberg, 2011) a fim de se explorar a variação na forma da folha entre os grupos.
216 Uma análise de variável canônica (CVA) foi aplicada para avaliar as diferenças na forma entre
217 as classes Norte e Sul e entre os grupos de amostragem (CVMC, CVRES, EXSMC, EXSRES,
218 NATMC e NATRES). CVA é uma análise discriminante projetada para maximizar variação
219 entre os grupos e minimizar a variação dentro dos grupos para obter a melhor segregação
220 possível (Fernandez-Mazuecos et al., 2013). A significância estatística de pares diferenciados
221 nas formas médias foi avaliada por um teste de permutação usando Procrustes com distância α
222 = 0,05 e 10.000 permutações. As matrizes de coordenadas resultantes foram utilizadas para
223 representar a forma e o tamanho de cada estrutura, calculado como a raiz quadrada da soma do
224 quadrado das distâncias de cada marco do centroide de cada imagem (Zelditch, Swiderski &
225 Sheets, 2012) e as diferenças entre os grupos foi testada por Análises de Variância (ANOVA).
226 Foi realizada uma comparação múltipla por *post hoc test* ($\alpha = 0.05$) do Tukey's honest
227 significant difference (HSD). Estas análises de ANOVA e Turkey Test foram realizadas no
228 pacote do R geomorph (Adams, Collyer & Kaliontzopoulo, 2018).

229

230 MÉTODOS FILOGENÉTICOS COMPARATIVOS E MORFOMETRIA GEOMÉTRICA

231 Primeiramente importou-se a árvore de haplótipos utilizada no trabalho de filogeografia
232 (Turchetto-Zolet et al., 2016), a qual sustenta uma hipótese filogeográfica das duas linhagens
233 para a espécie em estudo. No software MorfoJ, tendo a PCA que resumiu os dados em eixos
234 principais de maior variação construímos um filomorfoespaço (phylomorphospace) que é uma
235 representação dos dados morfológicos e da hipótese filogenética das linhagens evolutivas
236 presentes na espécie em conjunto.

237

REULTADOS

238

VARIAÇÃO FOLIAR ENTRE A DISTRIBUIÇÃO SUL E NORTE

239 Foi realizada as análises de morfometria geométrica para examinar a forma foliar e verificar a
240 existência de variação entre as folhas de *E. uniflora* localizadas na distribuição Sul (mata ciliar
241 (MC)) e Norte (restinga adjacente (RES)), e entre os grupos: exemplares recuperados de
242 exsicatas (EXC), casa de vegetação (CV) e ambiente natural (NAT). Inicialmente nós não
243 separamos os exemplares em grupos, apenas classificamos de acordo a origem do exemplar

244 (MC, RES, NAT ou CV). A análise morfométrica gerou 26 PCs (Tabela suplementar 2). O PC1
245 mostrou uma variância de 61.8% e PC2 6.8% na forma foliar, demonstrando que os exemplares
246 possuíam diferenças no morfoespaço. Em geral plantas localizadas na região norte em ambiente
247 de restinga adjacente possuem formas das folhas mais ovaladas diferentemente das formas mais
248 afiladas das folhas encontradas na distribuição sul de mata ciliar. Interessante destacar que já
249 aqui podemos visualizar que as plantas cultivadas em casa de vegetação mantêm suas diferenças
250 na forma das folhas em padrão semelhante ao encontrado na natureza (Figura 3A e B).

251 Os primeiros dois CVs demonstram variância de 48.42% e 29.76%, respectivamente o
252 que reforça a existência de diferenças entre as formas foliares em ambientes distintos da
253 distribuição (Tabela suplementar 3 e Figura 4). CV1 varia em função da base e do ápice foliar,
254 essencialmente. Valores positivos indicam folhas com base arredondada e ápices obtusos já os
255 valores negativos indicam folhas com bases atenuadas e ápices agudos. Esses resultados
256 revelaram dois grupos principais correspondentes para distribuição Norte/restinga e Sul/mata
257 ciliar, respectivamente (Figura 4A). Existe variação entre os grupos CV, EXS e NAT. Quando
258 comparamos os grupos CVRES e CVMC podemos observar diferenças no espaço de forma
259 significativos principalmente no eixo do CV2 ($p < 0,001$). Nos valores positivos verificamos
260 formas na base foliar mais arredondadas correspondendo ao ambiente de restinga adjacente
261 RES e nos valores negativos, formas na base foliar mais atenuadas correspondendo à mata ciliar
262 MC (Figura 4B e Tabela 1). Comparando os grupos EXSRES e EXSMC observamos diferenças
263 no espaço da forma significativos no eixo CV1 ($p < 0,001$). Esses dois grupos são os que se
264 dispersão mais centralmente no gráfico, nos valores positivos a base foliar é mais arredondada
265 e corresponde em sua maioria a ambientes de restinga adjacente, já os valores negativos que
266 por sua vez possuem base foliar mais atenuada correspondem a ambientes florestais (Figura 4C
267 e Tabela 1). Interessantemente, comparando os grupos NATRES e NATMC podemos observar
268 diferenças no espaço da forma significativos no eixo CV1 ($p < 0,001$), resultado que pode ser
269 explicado pelo fato de termos analisado ambientes específicos de ocorrência da espécie, nos
270 valores positivos encontramos as formas foliares mais arredondadas nos valores negativos
271 compreendem as formas mais afiladas das folhas respectivamente. Estes grupos diferentemente
272 dos demais não compartilham nenhum espaço de forma (Figura 4D e Tabela 1).

273 TAMANHO DA FOLHA

274 Variação de tamanho foi estimada a partir do tamanho do centroide (log) por ANOVAs,
275 diferiram considerando todos os dados para o tamanho da folha ($F = 29.6$; $P < 0,001$). Em geral,
276 plantas da região Norte/RES apresentam o tamanho da folha maior em comparação com plantas

277 da região Sul/MC (Figura 5). Quando analisados em múltiplas comparações os grupos CVRES
278 e NATRES obtiveram os maiores tamanhos foliares comparando aos CVMC e NATMC. No
279 entanto, para os grupos EXSRES e EXSMC não se verificou diferenças de tamanho das folhas
280 significativos ($P < 0,001$) (Figura 5 e Tabela 2).

281

FILOMORFOESPAÇO

282 É possível visualizar o sinal filogenético para o teste de hipótese ($P = 0,033$) onde veremos o
283 padrão que mostra os grupos mais próximas filogeneticamente que possuem morfologias mais
284 similares do que grupos mais distantes filogeneticamente (Figura 6). Os nós 2 e 5 são
285 conservados nesta análise em comparação a filogeografia a priori, sendo que o nó 2 reflete a
286 separação dos clados que agrupam os haplótipos diferentes entre ambiente da região sul e da
287 região norte. O grupo monofilético Sul/MC foi associado a forma foliar mais afilada. Já o clado
288 Norte/RES mostrou formas foliares mais ovaladas (Figura 6).

289

DISCUSSÃO

290 Populações vegetais que possuem ampla distribuição no AFD e ocupam ambientes
291 heterogêneos, como é o caso da *E. uniflora*, estão sujeitas a ampla pressão seletiva de
292 características que possam garantir a sua sobrevivência e estabelecimento no ambiente. As
293 diferenças nas condições ambientais podem ser agentes promotores de plasticidade ou seleção
294 local, atuando então como agentes de evolução adaptativa quando as variedades já apresentam
295 diferenças estabelecidas em seu genótipo. As análises multivariadas e de componentes
296 principais tem se mostrado bastante úteis para delimitações entre espécies morfologicamente
297 próximas e na compreensão de relações entre variedades de uma mesma espécie (Chemisquy
298 et al., 2009, Dalayap et al., 2011, Büger et al., 2015, Teixeira et al., 2021) estes dados
299 combinados com dados provenientes de DNA nos permitem inferências menos subjetivas e
300 sintetizar informações interdisciplinares. Este trabalho buscou associar a distribuição
301 geográfica da pitanga, as suas propriedades genótípicas e fenotípicas já exploradas a priori com
302 a morfometria geométrica, a fim de contribuir para o melhor entendimento da história evolutiva
303 da espécie.

304

VARIAÇÃO NA MORFOLOGIA DA FORMA ENTRE AS POPULAÇÕES

305 As folhas são os órgãos vegetativos mais expostos as condições ambientais
306 circundantes, e normalmente a variação nas características foliares de indivíduos de uma mesma
307 espécie podem estar associadas a dois fatores: plasticidade fenotípica, que é a mudança no

308 fenótipo expresso de um genótipo em função do ambiente (Scheiner 1993) ou a variação como
309 resposta evolutiva adaptativa, variantes genéticas de uma espécie particular que são adaptadas
310 a condições ambientais específicas ou fixada por deriva (Briggs & Walters 1984). *E. uniflora* é
311 uma espécie que na natureza assume formas não simétricas ao longo de sua distribuição,
312 bastante evidentes quando comparadas populações da distribuição Norte (acima do ‘portal de
313 Torre’) ambiente de restinga adjacente e da distribuição Sul (abaixo do ‘portal de Torre’)
314 ambiente de mata ciliar. Encontramos diferenças bastante significativas na morfometria foliar
315 ao compararmos populações de dois ambientes extremos da distribuição, com populações
316 representantes da Restinga e Mata Ciliar (Figuras. 3 e 4). No ecossistema de restinga é
317 característico solo arenoso e seco, altas temperaturas, ventos persistentes e maior incidência
318 solar, em contrapartida a mata ciliar ou ambientes florestais possuem solos mais ricos em
319 nutrientes e água. As folhas no geral são reconhecidas por apresentarem variação muito ampla
320 de forma e função, o que reflete sua importância adaptativa ao ambiente nas plantas (Gonçalves,
321 2007).

322 Observando os gráficos de PCA e CVA (Figuras. 3 e 4 e Tabela 1) com todos os grupos,
323 a maioria dos pontos não são colidentes, ainda que alguns se sobreponham no espaço da forma
324 média, todas as comparações em pares foram significantes estatisticamente ($p < 0.001$). Na
325 natureza as populações Norte e Sul podem ser diferenciadas com bastante precisão por
326 morfometria geométrica, observamos diferenças nos fenótipos presentes entre os ambientes de
327 restinga adjacente e mata ciliar (Figura 4D). No ambiente de restinga adjacente a morfologia
328 geométrica (MG) foliar possui base arredondada e ápice obtuso, na mata ciliar a MG foliar
329 possui base atenuada e ápice agudo, este resultado corrobora com as observações genéticas de
330 trabalhos a priori que mostraram diferenças significativas entre essas populações, sugerindo alta
331 diferenciação e evidências de adaptação local feitas (Turchetto-Zolet 2016, Barrientos-Diaz
332 (‘unpubl. data’), Margis et al., (‘unpubl. data’).

333 Alta variabilidade morfológica, é uma situação frequente em Myrtaceae (Landrum
334 1981, 1986). A progênie (CVRES e CVMC) crescidas em casa de vegetação sob as mesmas
335 condições edafoclimáticas manteve o fenótipo de suas populações matrizes, embora com um
336 grau de diferenciação menor em comparação com NATMC e NATRES (Figura 4B). Deste
337 modo podemos inferir que os processos responsáveis pela definição da forma foliar não sejam
338 meramente associados a plasticidade fenotípica. Os grupos recuperados dos herbários tiveram
339 o máximo de filtros para selecionar indivíduos que representassem os ambientes de restinga e
340 mata ciliar ao longo da distribuição da espécie, entretanto ao sul da distribuição temos uma

341 mata atlântica bastante segmentada e com uma gama de ambientes (mata ciliar, pampa e
342 planície costeira) que se comunicam e realizam trocas genéticas com maior frequência
343 (Turchetto-Zolet et al., 2016 (Veto et al. 'unpubl. data') esta condição pode ser observada na
344 Figura 3C na qual visualizados uma sobreposição maior de formas, ainda assim obtivemos
345 significância estatística na comparação destes grupos.

346 Encontramos um padrão interessante em relação ao tamanho do centroide, entre os
347 grupos, em todas as comparações (ecossistema de restinga e mata ciliar) a mediana dos grupos
348 de restinga sempre foi maior. Folhas maiores aumentam a quantidade de luz captada (Gonçalves
349 2007) esta pode ter sido uma pressão de adaptação local associada a alta incidência solar neste
350 ambiente sendo um dos fatores que impulsionam a evolução da forma.

351 Um estudo com indivíduos das mesmas populações estudadas neste trabalho, da
352 distribuição Sul/mata ciliar e Norte/restinga tendo suas respostas a estresse hídrico testada e a
353 resposta de expressão do gene P5CS envolvido na biossíntese da prolina, o acúmulo de prolina
354 nas plantas favorece o ajuste osmótico, demonstrou que as plantas da mata ciliar, que
355 naturalmente estão em solo fértil com alta disponibilidade de água e baixas temperaturas no
356 inverno foi densamente maior em comparação com as plantas da restinga. O que explica que as
357 plantas de restinga já estão adaptadas a ambientes inóspitos com alta salinidade e escassez de
358 água sendo conseqüentemente mais tolerante que as plantas da mata ciliar (Anton et al., 2019).
359 Corroborando a esta análise, recentemente uma análise de correlação entre a frequência alélica
360 e os ecossistemas com dados de marcadores SNPs e baseado em um modelo misto de fator
361 latente (LFMM) que sugeriu que havia correlação entre a frequência de alelos a dois fatores
362 ambientais sintéticos: temperatura e precipitação (Veto et al. 'unpubl. data'). Um trabalho que
363 analisou a anatomia foliar de populações desses mesmos ambientes e suas progênies cultivadas
364 em casa de vegetação apontou diferença quanto ao tamanho das células epidérmicas ou
365 presença e ausência de drusas (Barrientos-Diaz 'unpubl. data').

366 No que se refere a associação dos dados na análise de filomorfoespaço, os resultados
367 obtidos neste trabalho corroboram a hipótese levantada por Turchetto-Zolet et al., 2016. A
368 autora sugere duas linhagens evolutivas principais para *E. uniflora* provenientes de regiões
369 geográficas distintas e os nomeia de linhagem sul e norte da AFD. Aqui podemos visualizar
370 que as formas geométricas das folhas são associadas aos dois clados principais (Fig. 6). O nó
371 ancestral (2) sugere uma forma mais parecida com a encontrada na distribuição sul com muita
372 variação em seus haplótipos, já a região norte possui pouca variação nos seus haplótipos e
373 possui uma forma mais característica de populações de restinga.

374

CONCLUSÃO E PESPECTIVAS

375 Nossa análise da morfometria geométrica mostrou que *E. uniflora* possui diferenciação
376 pela forma e tamanho da folha. Esses resultados associados à sua hipótese filogeográfica
377 (Turchetto-Zolet et al., 2016) e variedade alélica e as diferenças genéticas, corroboram para a
378 aceitação de que possa estar ocorrendo a separação da espécie em variedades com
379 características genéticas adaptativas selecionadas por pressões ambientais. Este estudo
380 demonstrou que existe variação de forma entre os ecossistemas de restinga adjacente e mata
381 ciliar, ecorregiões do domínio mata atlântica, além de demonstrar a importância de a análise de
382 morfometria geométrica na descrição das formas foliares. Ainda se faz necessário análises
383 histológicas e morfológicas a fim de investigar possíveis mecanismos que possam estar
384 relacionados aos processos adaptativos das espécies, e futuros estudos de cruzamento entre os
385 indivíduos de populações de ambientes entremos para testar compatibilidade reprodutiva. Além
386 disso, esse estudo abre novas questões para futuras investigações, como por exemplo a análise
387 de associação genômica com fenótipo a partir de dados de marcadores SNPs.

388

389 REFERÊNCIAS

- 390 **Adams DC, Collyer ML, Kaliontzopoulou A. 2018.** Geomorph: software for geometric
391 morphometric analyses. R package version 3.0.6.
- 392 **Almeida, D.J. de, M.V. Faria, & P.R. Da Silva. 2012.** Biologia experimental em Pitangueira:
393 uma revisão de cinco décadas de publicações científicas / Experimental biology in pitangueira:
394 a review of five decades of scientific publications. *Revista Ambiência*. 8: 159–175.
- 395 **Anton, D.B., Guzman, F.L., Vetö, N.M. et al. 2019.** Characterization and expression analysis
396 of P5CS (Δ 1-pyrroline-5-carboxylate synthase) gene in two distinct populations of the Atlantic
397 Forest native species *Eugenia uniflora* L.. *Mol Biol Rep* **47**, 1033–1043.
- 398 **Briggs D & Walter.S M. 1993.** Plant Variation and Evolution. United Kingdom at the
399 University Press, Cambridge. 3° ed.
- 400 **Chemisquy, M.A., F.J. Prevosti, & O. Morrone. 2009.** Seed morphology in the tribe
401 Chloraeae (Orchidaceae): combining traditional and geometric morphometrics. *Botanical*
402 *Journal of the Linnean Society* 160: 171–183.
- 403 **Dalayap, R.M., M.A.J. Torres, & C.G. Demayo. 2011.** Landmark and outline methods in
404 describing petal, sepal and labellum shapes of the flower of Mokara Orchid varieties.
405 *International Journal of Agriculture and Biology* 13: 652–658.
- 406 **Fernandez-Mazuecos M, Blanco-Pastor JL, Vargas P. 2013.** A phylogeny of toadflaxes
407 (*Linaria* Mill.) based on nuclear internal transcribed spacer sequences: systematic and
408 evolutionary consequences. *International Journal of Plant Sciences*. 174: 234 – 249.

- 409 **Govaerts, R. Dransfield, J. Zona, SF. Hodel, DR. Henderson, A. 2011.** World checklist of
410 Myrtaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Available at: <http://apps.->
411 kew.org/wcsp/ (accessed 13 January 2021).
- 412 **Jolliffe I. 2002.** Principal component analysis, 2nd edn. New York: Springer.
- 413 **Joly C, Aidar M, Klink CA, McGrath DG, Moreira AG, Moutinho P, Nepstad DC,**
414 **Oliveira AA, Pott A, Rodal MJN, Sampaio EVSB. 1999.** Evolution of the Brazilian
415 phytogeography classification systems: implications for biodiversity conservation. *Ciencia e*
416 *Cultura*. 51: 331–348.
- 417 **Klingenberg CP. 2011.** MorphoJ: an integrated software package for geometric
418 morphometrics. *Molecular Ecology Resources*. 11: 353–357.
- 419 **Lacerda LD, Araujo DSD, Maciel NC. 1993.** Dry coastal ecosystems of the tropical Brazilian
420 coast. In: van der Maarel E, ed. Dry coastal ecosystems: Africa, America, Asia and Oceania.
421 *Amsterdam: Elsevier*. 477±493
- 422 **Lucas, E.J., & M.O. Büniger. 2015.** Myrtaceae in the Atlantic forest: their role as a ‘model’
423 group. *Biodiversity and Conservation* 24: 2165–2180.
- 424 **Marcus, LF. Corti, M. Loy, A. Naylor, GJP. Slice, DE. 1996.** Advances in Morphometrics.
425 NATO ASI series A:Life Sciences vol. 284, Plenum Press, New York.
- 426 **Margis, R., D. Felix, J.F. Caldas, F. Salgueiro, D.S.D. De Araujo, P. Breyne, M. Van**
427 **Montagu, D. De Oliveira, & M. Margis-Pinheiro. 2002.** Genetic differentiation among three
428 neighboring Brazil-cherry (*Eugenia uniflora* L.) populations within the Brazilian Atlantic rain
429 forest. *Biodiversity and Conservation*. 11: 149–163.
- 430 **Monteiro, LR, Reis, SP. 1999.** Princípios de Morfometria Geométrica. Holos: Ribeirão Preto.
- 431 **Morrone, J.J. 2006.** Biogeographic Areas And Transition Zones Of Latin America And The
432 Caribbean Islands Based On Panbiogeographic And Cladistic Analyses Of The Entomofauna.
433 *Annual Review of Entomology*. 51: 467–494.
- 434 **Morrone, J.J. 2014.** Biogeographical regionalisation of the Neotropical region. *Zootaxa* 3782:
435 1.
- 436 **Myers, N., R.A. Mittermeier, C.G. Mittermeier, G.A.B. da Fonseca, & J. Kent. 2000.**
437 Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*. 403: 853–858.
- 438 **Oliveira-Filho, A.T., & M.A.L. Fontes. 2000.** Patterns of Floristic Differentiation among
439 Atlantic Forests in Southeastern Brazil and the Influence of Climate1. *Biotropica* 32: 793–810.
- 440 **Rohlf FJ, Slice D. 1990.** Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition
441 of landmarks. *Systematics Zoology*. 39: 40–59
- 442 **Rohlf FJ. 2015.** The TPS series of software. *Hystrix* 26: 9–12.
- 443 **Salgueiro F, Felix D, Caldas JF, Margis-Pinheiro M, Margis R. 2004.** Even population
444 differentiation for maternal and biparental gene markers in *Eugenia uniflora*, a widely
445 distributed species from the Brazilian coastal Atlantic rain forest. *Diversity & Distributions*. 10:
446 20.

447 **Scheiner S M. 1993.** Genetics and Evolution of Phenotypic Plasticity. *Annual Review of*
448 *Ecology and Systematics.* 24:35-68.

449 **SCARANO, F.R. 2002.** Structure, Function and Floristic Relationships of Plant Communities
450 in Stressful Habitats Marginal to the Brazilian Atlantic Rainforest. *Annals of Botany.* 90: 517–
451 524.

452 **Scarano, F.R. 2009.** Plant communities at the periphery of the Atlantic rain forest: Rare-species
453 bias and its risks for conservation. *Biological Conservation.* 142: 1201–1208.

454 **Teixeira, M.C., I. V Quintana, A.L.A. Segatto, R. Maestri, L.B. Freitas, M. Augsten, J.R.**
455 **Stehmann, & C. Turchetto. 2021.** Changes in floral shape: insights into the evolution of wild
456 *Nicotiana* (Solanaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 1–19.

457 **Turchetto-Zolet, A. C., F. Pinheiro, F. Salgueiro, & C. Palma-Silva. 2013.**
458 Phylogeographical patterns shed light on evolutionary process in South America. *Molecular*
459 *Ecology.* 22: 1193–1213.

460 **Turchetto-Zolet, Andreia C., F. Salgueiro, C. Turchetto, F. Cruz, N.M. Veto, M.J.F.**
461 **Barros, A.L.A. Segatto, L.B. Freitas, & R. Margis. 2016.** Phylogeography and ecological
462 niche modelling in *Eugenia uniflora* (Myrtaceae) suggest distinct vegetational responses to
463 climate change between the southern and the northern Atlantic Forest. *Botanical Journal of the*
464 *Linnean Society.* 182: 670–688.

465 **Zelditch ML, Swiderski DL, Sheets HD. 2012.** Geometric morphometrics for biologists: a
466 primer. Amsterdam: Elsevier.

467 **Zelditch, ML, Swiderski, DL, Sheets HD, Fink WL. 2004.** Geometric Morphometrics for
468 Biologists: a Primer. Elsevier Academic Press, San Diego, California, USA.

469

470

471

472

473

474

475

476

477

478

479

480

481

482

483 Legenda das Figuras

484 **Figura 1.** Mapa da distribuição geográfica das exsicatas depositadas em herbários de *Eugenia*
485 *uniflora*. As cores representam as diferentes populações de ecossistema de restinga adjacente
486 (vermelho), localização Norte da distribuição e ecossistemas de mata ciliar, pampa* e planície
487 costeira*, localização Sul da distribuição.

488 **Figura 2.** Morfologia foliar de um exemplar de nossa biblioteca. Os marcos anatômicos
489 atribuídos para as análises de morfometria geométrica, distribuídos de 1-16 na parte adaxial da
490 lâmina foliar

491 **Figura 3.** Análise de Componente Principal (PCA). A, variações na forma da folha em visão
492 adaxial entre exemplares da distribuição Sul e Norte sem a distinção de grupos, populações
493 pintadas em vermelho todas aquelas de ambiente de restinga adjacente, e as em azul de
494 ambientes de mata ciliar. B, diferenciação dos classificadores da origem do exemplar,
495 NAT=natureza, CV=casa de vegetação e EXS=herbários.

496 **Figura 4.** Análise de variância canônica (CVA). A, vista adaxial de todas as populações da
497 distribuição Norte e Sul e sua origem de coleta. B, vista adaxial exemplares das populações
498 cultivadas em casa de vegetação. C, vista adaxial dos exemplares recuperados dos herbários.
499 D, vista adaxial dos exemplares coletados diretamente em seu habitat natural. As formas
500 associadas podem ser visualizadas a partir de formas esquemáticas em preto no gráfico.

501 **Figura 5:** Boxplots da variação de tamanho entre as populações de *E. uniflora* nos ambientes
502 de restinga e mata ciliar (natureza e casa de vegetação) e exsicatas.

503 **Figura 6:** Representação gráfica da análise de filomorfoespaço. Destacando-se os dois
504 principais clados de uma hipótese de relações haplotípicas entre as populações da distribuição
505 Norte e Sul e a forma foliar associada a cada um dos clados.

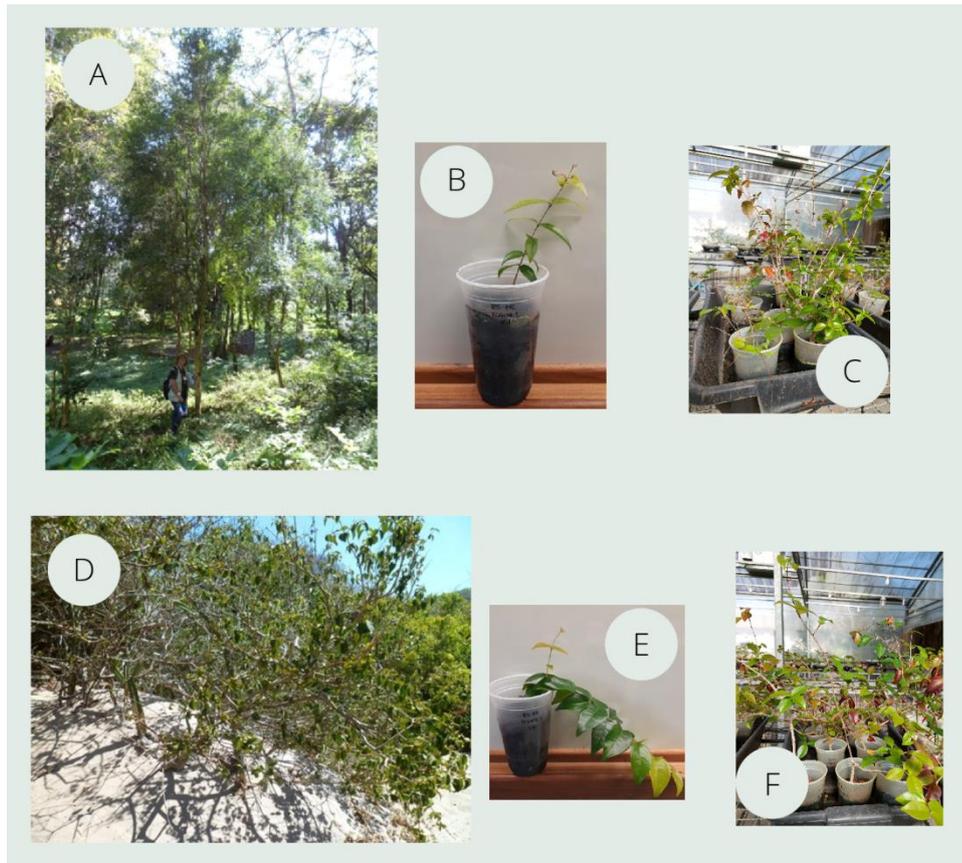


Figura Suplementar 1: Fenótipos observados em *E.uniflora*. A, B e C: fenótipo encontrado na localização sul em mata ciliar. D, E e F: fenótipo encontrado na localização norte em restinga. Indivíduos A e D em seus ambientes naturais, plantas B, C e E, F indivíduos cultivados em casa de vegetação em dois estados de crescimento, mata ciliar e restinga, respectivamente.

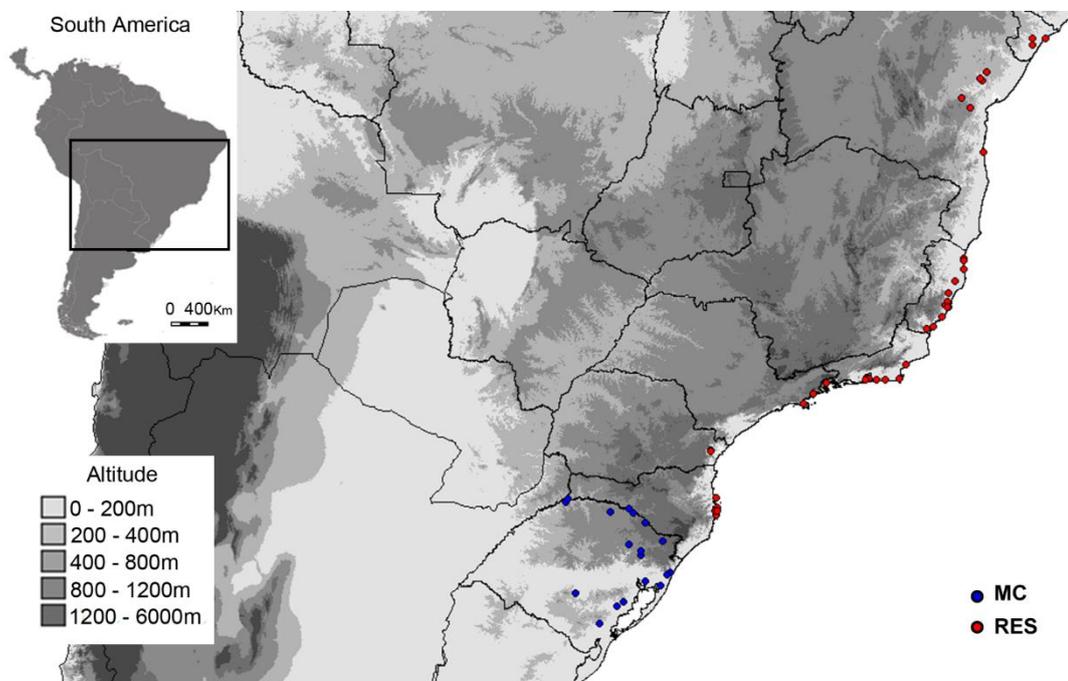


Figura 1. Mapa da distribuição geográfica das exsicatas depositadas em 14 herbários de *Eugenia uniflora*. As cores representam as diferentes populações de ecossistema de restinga adjacente (vermelho), localização Norte da distribuição e ecossistemas da localização Sul da distribuição.

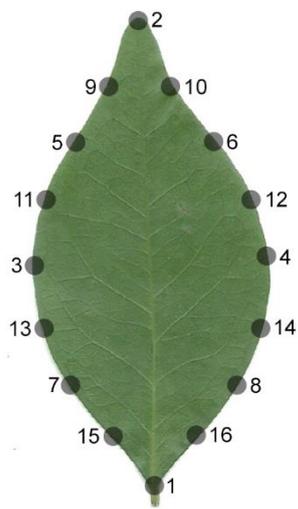


Figura 2. Morfologia foliar de um exemplar de nossa biblioteca. Os marcos anatômicos atribuídos para as análises de morfometria geométrica, distribuídos de 1-16 na parte adaxial da lâmina foliar.

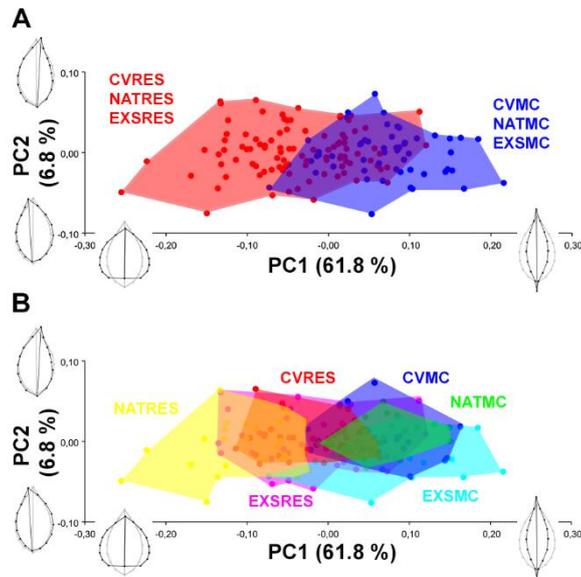


Figura 3. Análise de Componente Principal (PCA). A, variações na forma da folha em visão adaxial entre exemplares da distribuição Sul e Norte sem a distinção de grupos, populações pintadas em vermelho todas aquelas de ambiente de restinga adjacente, e as em azul de ambientes de mata ciliar. B, diferenciação dos classificadores da origem do exemplar, NAT=natureza, CV=casa de vegetação e EXS=herbários.

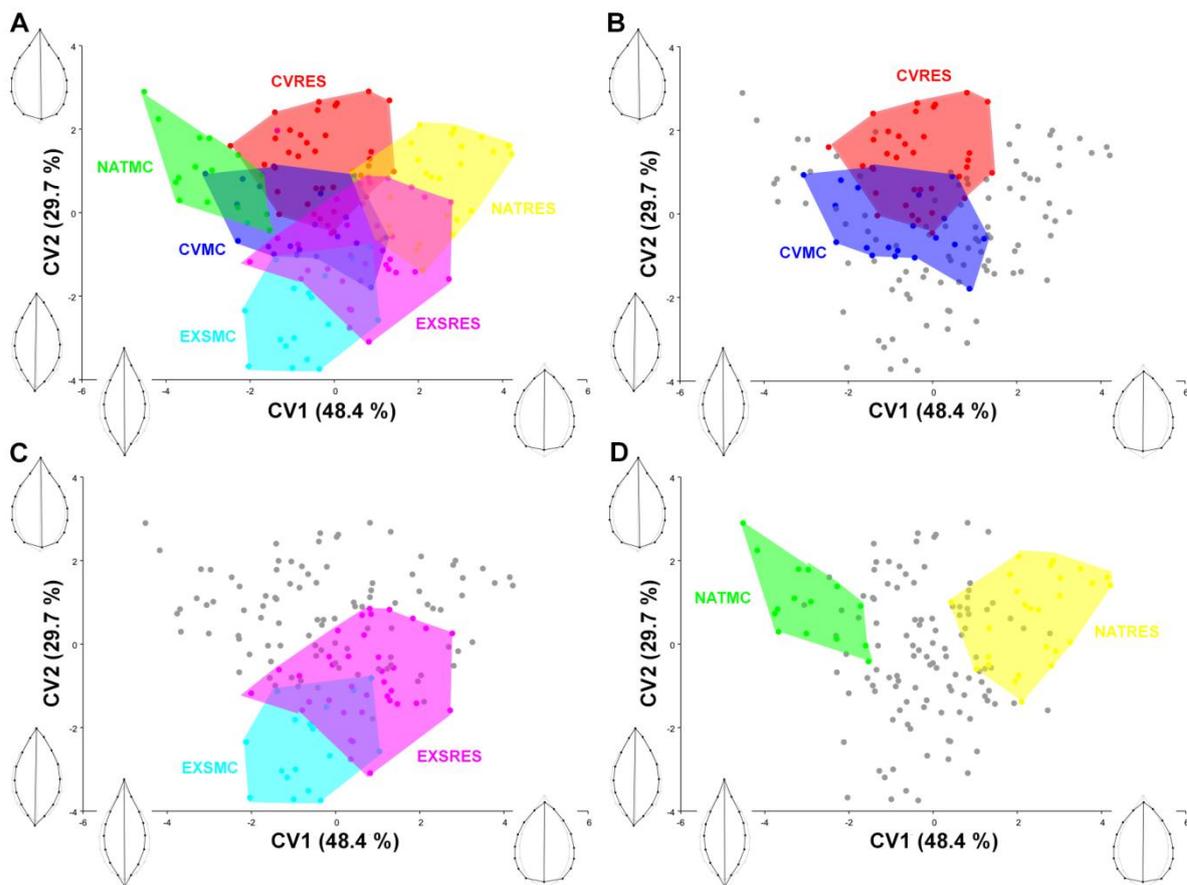


Figura 4. Análise de variância canônica (CVA). A, vista adaxial de todas as populações da distribuição Norte e Sul e sua origem de coleta. B, vista adaxial exemplares das populações cultivadas em casa de vegetação. C, vista adaxial dos exemplares recuperados dos herbários. D, vista adaxial dos exemplares coletados diretamente em seu habitat natural. As formas associadas podem ser visualizadas a partir de formas esquemáticas em preto no gráfico.

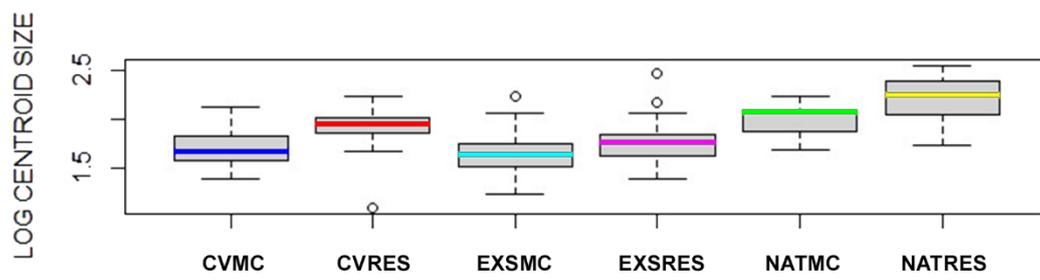


Figura 5. Boxplots da variação de tamanho entre as populações de *E. uniflora* nos ambientes de restinga e mata ciliar (natureza e casa de vegetação) e exsiccatas.

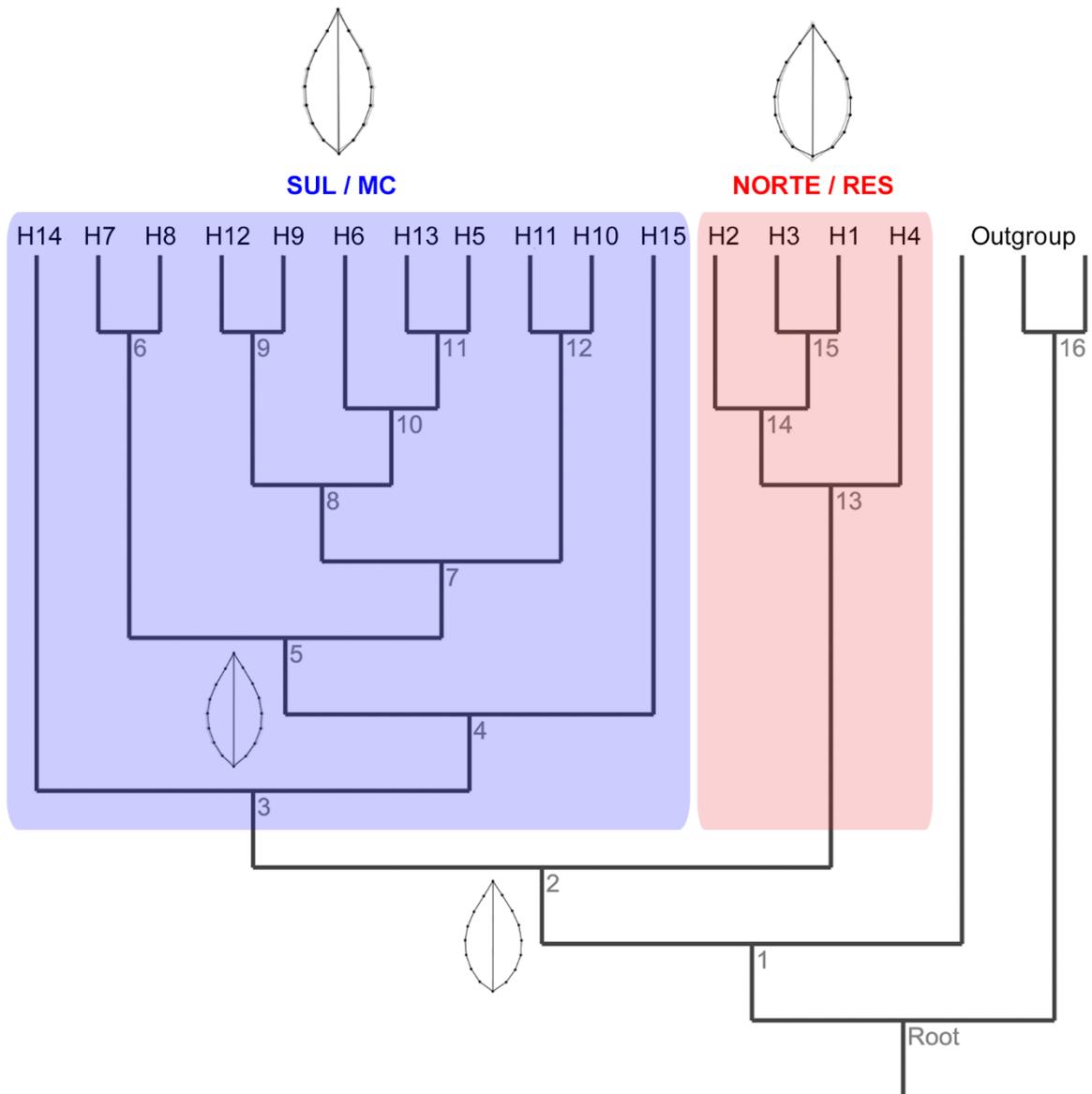


Figura 6: Representação gráfica da análise de filomorfoespaço. Destacando-se os dois principais clados de uma hipótese de relações haplotípicas entre as populações da distribuição Norte e Sul e a forma foliar associada a cada um dos clados.