



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Lidiane Cordeiro de Almeida

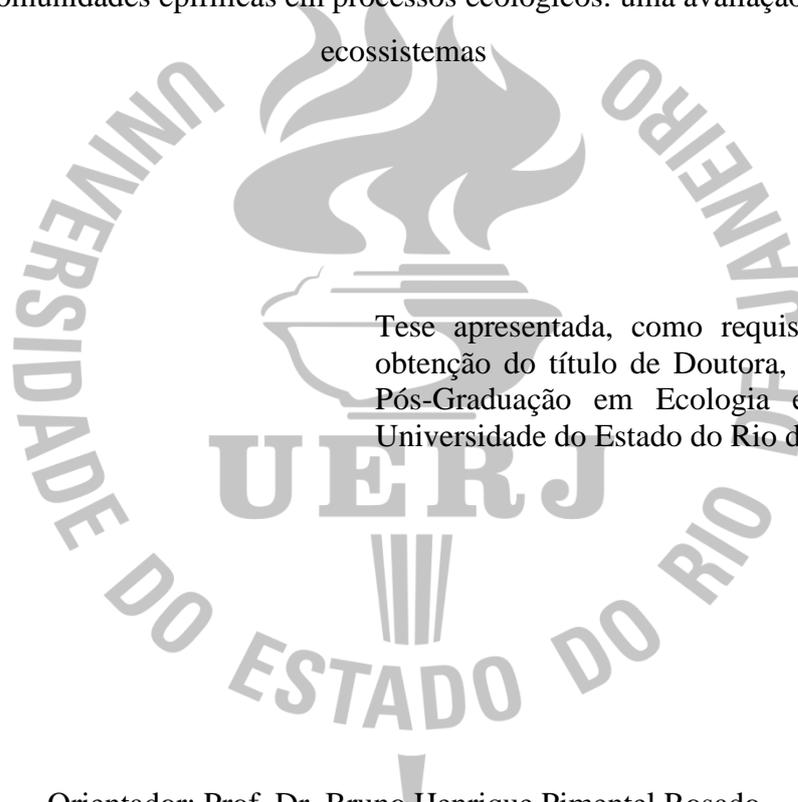
**Efeito de comunidades epifíticas em processos ecológicos: uma avaliação de
folhas a ecossistemas**

Rio de Janeiro

2022

Lidiane Cordeiro de Almeida

Efeito de comunidades epifíticas em processos ecológicos: uma avaliação de folhas a ecossistemas



Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora, ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Bruno Henrique Pimentel Rosado

Rio de Janeiro

2022

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ / REDE SIRIUS / BIBLIOTECA CTC-A

A447 Almeida, Lidiane Cordeiro de.
Efeito de comunidades epifíticas em processos ecológicos: uma
avaliação de folhas a ecossistemas/ Lidiane Cordeiro de Almeida. –2022.
97 f. : il.

Orientador: Bruno Henrique Pimentel Rosado
Tese (Doutorado em Ecologia e Evolução) - Universidade do
Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara
Gomes.

1. Ecologia vegetal - Teses. 2. Epífita - Teses. 3. Plantas
hospedeiras - Teses. I. Rosado, Bruno Henrique Pimentel. II.
Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia
Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 581.5

Patricia Bello Meijinhos CRB-7/ 5217- Bibliotecária responsável pela elaboração da ficha catalográfica

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese,
desde que citada a fonte

Assinatura

Data

Lidiane Cordeiro de Almeida

Efeito de comunidades epifíticas em processos ecológicos: uma avaliação de folhas a ecossistemas

Tese apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora, ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 10 de novembro de 2022.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Bruno Henrique Pimentel Rosado (Orientador)
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Prof.^a Dra. Nivea Dias dos Santos
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

Prof. Dr. André Felipe Nunes-Freitas
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ)

Prof.^a Dra. Eugenia Zandonà
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes - UERJ

Rio de Janeiro

2022

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Valdely e Antonio (*in memoriam*).

AGRADECIMENTOS

Obstáculos fazem parte da vida, coisas acontecem e se inter põem em nosso caminho, situações desandam. Bem, nem em minhas piores hipóteses sobre a trajetória do doutorado fui capaz de prever as adversidades impostas nos últimos quatro anos. Tempos difíceis nos mostram o quão importante e valioso é ter uma rede de apoio. Por sorte, nunca estive só e escrevo para agradecer a todas as pessoas que de certa forma contribuíram com a conclusão do presente trabalho.

Agradeço à Universidade do Estado do Rio de Janeiro, pioneira na implantação da política de cotas, que além de abrir as portas da universidade propicia a permanência dos seus alunos. Também agradeço a Agência dos Estados Unidos para o Desenvolvimento Internacional (USAID) e à Academia Nacional de Ciências (NAS) dos EUA no âmbito do programa PEER (número AID-OAA-A-11-00012) pelo apoio financeiro, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa.

Gostaria de agradecer ao meu orientador Bruno Rosado, pela oportunidade de ter sido sua aluna de iniciação científica, mestrado e doutorado. O Bruno é um excelente mentor, sempre encoraja seus alunos com espíritosidade e otimismo sem igual. **MUITO OBRIGADA!**

Aos meus companheiros de campo na Amazônia: André Souza, Júlio Fornazier, Mauro Brum e Silvia Barrera. Com os quais compartilhei muitos momentos de aprendizado e alegria.

Agradeço às professoras Denise Klein e Claudia Barros por aceitarem contribuir com um dos capítulos da tese. Infelizmente, não pudemos dar continuidade ao capítulo, mas não poderia deixar de agradecer pelas numerosas horas de ensino.

À Eugenia Zandonà e a Luciana F. Alves pelas valiosas contribuições feitas durante o exame de qualificação.

A todos os queridos componentes do Laboratório de Ecologia Vegetal dos últimos 10 anos. Em especial, agradeço a minha grande amiga e companheira de turma do doutorado Bianca Zorger, que esteve sempre disposta a ajudar, ouvir e acolher.

Aos meus pais, Antonio de Almeida e Valdely C. de Almeida, pelos ensinamentos e por confiarem em mim. Apesar do meu pai não estar fisicamente presente em minha vida, eu sinto a sua presença mesmo na sua ausência. Minha mãe é excepcional, meu exemplo de força

e coragem, sem ela o caminho até aqui não teria sido percorrido. Também os agradeço por terem me dado o melhor irmão que eu poderia ter.

Ao meu grande parceiro de vida Eduardo Odon. Eduardo sempre me faz rir e enxergar situações sob diferentes perspectivas, a levar a vida de uma forma mais leve e fluida. Obrigada por me apoiar e me ajudar a enxergar o que há de melhor em mim. Obrigada por me ouvir com paciência, aconselhar, questionar bastante e partilhar os melhores momentos da minha vida.

Aos membros da minha família interespécie: Sky, Dudu, Clarice e Caju (meu gato emprestado). Minhas companhias de literalmente todo o processo de escrita e análise de dados desse doutorado.

Agradeço também a minha amiga Raiane Oliveira, por mais de uma década de amizade, apoio nos dias difíceis e por sempre estar ao meu lado.

Aos amigos insulanos de longa data Ana Lúcia, Bruno, Shirley e Igor por todos os momentos de descontração que compartilhamos nos últimos anos.

A todos muito obrigada.

It is now time to consider the question, what obvious effects, if any, are produced by the presence of this organism on the leaves of the phanerogam?

RESUMO

ALMEIDA, L.C. *Efeito de comunidades epifílicas em processos ecológicos: uma avaliação de folhas a ecossistemas*. 2022. 97 f. Tese. (Doutorado em Ecologia e Evolução) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

Uma das questões fundamentais da Ecologia consiste no questionamento da relação entre organismos não parasitos com o seu hospedeiro e o funcionamento do ecossistema. Os organismos que se estabelecem em superfícies foliares de plantas em florestas tropicais chamam atenção desde o século XIX. A filosfera (i.e. tecido foliar) é habitat para bactérias, cianobactérias, fungos, líquens e briófitas. O entendimento sobre a função ecológica das epífilas no funcionamento do hospedeiro e processos ecossistêmicos permanece escasso. No presente trabalho, buscamos preencher algumas lacunas do conhecimento sobre a interação filosfera hospedeiro. No capítulo 1, revisamos o conhecimento produzido sobre a interação da filosfera hospedeiro nos últimos 75 anos. Como são diversas as denominações utilizadas para referir-se a filosfera, contemplamos os diversos termos utilizados com uma revisão sistemática da literatura. A partir do nosso protocolo de busca, encontramos 3.557 artigos e apenas 25 foram elegíveis para a revisão. Identificamos características mensuradas nos artigos relacionados à fotossíntese, recurso, defesa, hidráulica e processos ecossistêmicos. De modo geral, com base nas características apresentadas nos estudos descrevemos o papel ecológico das epífilas. Detectamos que os estudos negligenciaram a diversidade de organismos na filosfera e, em geral, foram conduzidos na América Central. No segundo capítulo, investigamos se a susceptibilidade de plantas a cobertura por epífilas na floresta Amazônica, pode ser modulada por características das plantas hospedeiras, assim como os efeitos para o incremento de biomassa e fixação biológica de nitrogênio. Apesar da premissa de que as características da planta hospedeira relacionadas à capacidade de repelir água podem influenciar a suscetibilidade das folhas à colonização, estas não foram variáveis influentes para a cobertura da filosfera. Em geral, nossos resultados sugerem que características foliares ligadas ao escoamento de água podem não influenciar o estabelecimento de organismos na filosfera. As plantas hospedeiras apresentaram maior cobertura da filosfera quando possuem menos de sete metros de altura. Portanto, sugerimos que as características microclimáticas podem ter a maior influência no estabelecimento de comunidades epifílicas.

Palavras-chave: Epífila. Filosfera. Epífita. Planta hospedeira. Fixação biológica de nitrogênio.
Característica funcional.

ABSTRACT

ALMEIDA, L.C. *Effect of epiphyllous communities on ecological processes: a leaf to ecosystem assessment*. 2022. 97 f. Tese. (Doutorado em Ecologia e Evolução) - Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

The relationship between non-parasitic organisms with their host and the functioning of the ecosystems is one of the fundamental questions of Ecology. Organisms that establish on leaf surfaces of plants in tropical forests have attracted attention since the 19th century. The phyllosphere (i.e., leaf tissue) is a habitat for bacteria, cyanobacteria, fungi, lichens, and bryophytes. The understanding of the ecological role of epiphyllous in host functioning and ecosystem processes remains scarce. In the present study, we investigated some gaps in knowledge about the phyllosphere host interaction. We review studies published over the last 75 years on the phyllosphere host interaction in Chapter 1. We contemplate the different terms used to refer to the phyllosphere in a systematic review of the literature. In our search protocol, we found 3.557 articles, and only 25 were eligible for revision. We identified traits measured in articles related to photosynthesis, resource, defense, hydraulics, and ecosystem processes. In general, based on the characteristics presented in the studies, we describe the ecological role of epiphyllous. We found that studies neglected the diversity of organisms in the phyllosphere and were generally conducted in Central America. In the second chapter, we investigated whether the susceptibility of plants to cover by epiphyllous and biological nitrogen fixation in the Amazon rainforest can be modulated by traits of the host plants. Despite the premise that the traits of the host plant related to the ability to repel water can influence the susceptibility of leaves to colonization, they were not influential variables for the coverage of the phyllosphere. In general, our results suggest that foliar traits linked to water runoff may not influence the establishment of organisms in the phyllosphere. Host plants less than seven meters in height showed the most coverage of the phyllosphere. Therefore, we suggest that microclimatic characteristics may be the most important for establishing epiphyllous communities.

Keywords: Epiphyllous. Phyllosphere. Epiphyte. Host plant. Biological nitrogen fixation. Functional trait.

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO GERAL	11
1	ESTADO DA ARTE SOBRE COMUNIDADES EPIFILICAS E SEUS EFEITOS SOBRE FUNCIONAMENTO VEGETAL EM DIFERENTES ESCALAS	19
1.1	Introdução	20
1.2	Materiais e métodos	23
1.2.1	<u>Processo de coleta de dados</u>	23
1.3	Resultados e discussão	27
1.3.1	<u>Negligenciando a co-ocorrência dos organismos da filosfera: avaliações quase sempre par a par</u>	29
1.3.2	<u>Quais características são medidas e como elas se associam às estratégias ecológicas?</u>	31
1.3.3	<u>Fotossíntese</u>	33
1.3.4	<u>Características morfológicas foliares das plantas hospedeiras</u>	34
1.3.4.1	Recurso.....	34
1.3.4.2	Defesa.....	35
1.3.4.3	Hidráulico.....	36
1.3.5	<u>Ecossistêmico</u>	37
1.3.6	<u>E as características da filosfera?</u>	39
1.4	Considerações finais	40
	REFERÊNCIAS	41
2	EFEITO DE EPÍFILAS SOBRE CRESCIMENTO VEGETAL E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM PLANTAS DA AMAZÔNIA	57
2.1	Introdução	58
2.2	Materiais e métodos	60
2.2.1	<u>Área de estudo</u>	60
2.2.2	<u>Seleção das espécies</u>	62
2.2.3	<u>Características da planta hospedeira</u>	64

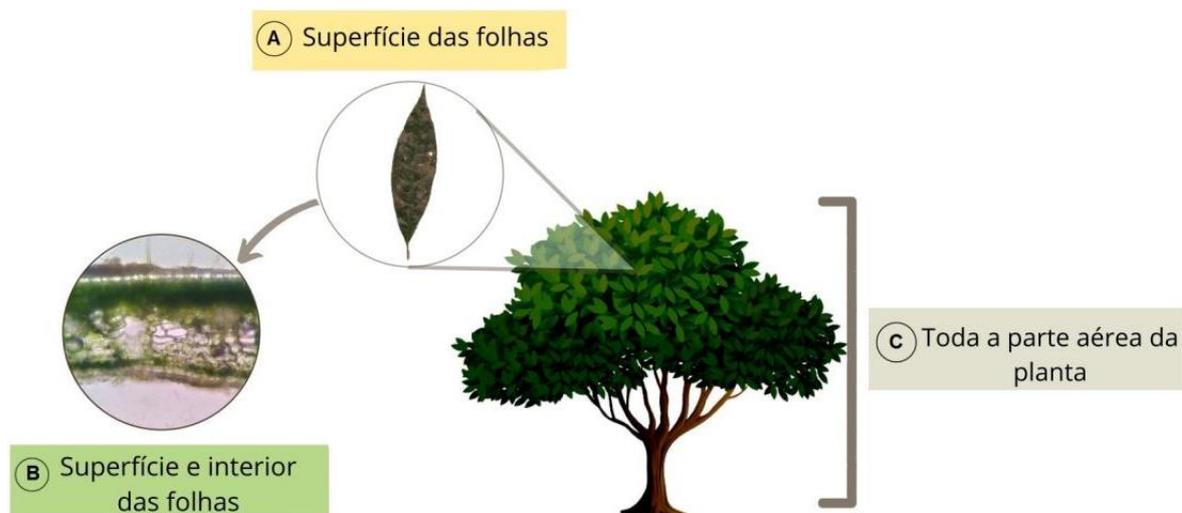
2.2.3.1	Medidas de características morfológicas.....	64
2.2.3.2	Repelência hídrica foliar.....	64
2.2.3.3	Índice de cobertura por epífilas.....	65
2.2.3.4	Altura das plantas e crescimento diamétrico.....	65
2.2.4	<u>Fixação biológica de nitrogênio</u>	66
2.2.5	<u>Dados abióticos</u>	66
2.2.6	<u>Análise de dados</u>	67
2.3	Resultados	69
2.4	Discussão	77
2.5	Conclusão	82
	REFERÊNCIAS	83
	CONCLUSÃO GERAL	97

INTRODUÇÃO GERAL

As superfícies foliares como um suporte para organismos com hábitos epifíticos são registradas por botânicos em florestas tropicais desde o século XIX (Ward 1884). No entanto, os estudos sobre os organismos associados a plantas vivas se concentraram principalmente nas raízes (Last and Deighton 1965). Somente na década de 50, a folha foi reconhecida como um micro-habitat para uma ampla gama de micro-organismos não parasitas como bactérias e fungos.

Nos anos de 1955 – 1956, a terminologia filosfera foi proposta para referir-se a superfície da folha como um habitat em analogia ao termo rizosfera (Figura 1, A) (Last 1955; Ruinen 1956). Ruinen (1956), ao investigar a relação entre diferentes organismos com comportamento epifítico, observou a existência de um meio característico condicionado pela folha, onde as populações de fungos e bactérias aumentam progressivamente com a idade das folhas. O termo filosfera ganhou novas definições nas últimas décadas. Segundo Morris et al. (2002), a filosfera abrange as áreas internas e externas da folha (Figura 1, B). Para Vorholt (2012), a filosfera representa toda a parte aérea de uma planta, abrigando diversos organismos que crescem na superfície, denominadas epífitas e epífilas, assim como os endófitos que vivem no interior de uma planta (Figura 1, C).

Figura 1 – Representação das diferentes definições do termo filosfera ao longo das últimas décadas.



Legenda: (A) O termo filosfera foi inicialmente definido como a superfície externa da folha por Last (1955) e Ruinen (1956). (B) Morris et al. (2002) expandiram o conceito da filosfera para incluir as áreas internas e externas da folha, englobando a endosfera. (C) Outra definição proposta para filosfera é a inclusão de toda a parte aérea da planta (Vorholt 2012), abrangendo a dermosfera que corresponde a camada mais externa do tronco de plantas lenhosas.

Fonte: A autora, 2022.

As folhas de plantas em ecossistemas tropicais são micro-habitats de comunidades altamente diversas compostas por variadas combinações de bactérias, cianobactérias, algas verdes, líquens, fungos e briófitas (Ruinen 1961; Coley et al. 1993; Coley and Kursar 1996). As bactérias são o grupo mais abundante na filosfera, com a densidade de células bacterianas em apenas um cm^2 de área foliar sendo estimada em $10^6 - 10^7$ (Lindow and Brandl 2003). No nível individual, uma árvore pode abrigar de 100 a 670 espécies bacterianas em suas folhas (Kembel et al. 2014; Lambais et al. 2014). Estima-se que para toda a região da Mata Atlântica o número de espécies bacterianas presentes na filosfera seja de 13 milhões das quais 97% ainda não são descritas (Lambais et al. 2014). Já as estimativas para o número de líquens por folha variam de 40 a 81 (Lucking and Matzer 2001), enquanto para briófitas foram registradas até 25 espécies por folha (Lucking 1997). Apesar de estarem presentes em menor número em comparação às bactérias e líquens, as briófitas são responsáveis pela maior parte da biomassa presente na filosfera (Bentley 1987).

Análises conduzidas em estudos anteriores sugerem que o microclima, a identidade da espécie hospedeira, as características físicas das folhas hospedeiras e propriedades químicas determinam a composição e a cobertura da filosfera (Coley et al. 1993; Bradley et al. 2003; Müller and Riederer 2005; Burd 2007; Sonnleitner et al. 2009; Lambais et al. 2014; Vacher et al. 2016). As folhas das plantas vasculares que crescem em condições tropicais úmidas oferecem um micro-habitat favorável ao estabelecimento e desenvolvimento de organismos parasitas ou comensais (Pinokiyo et al. 2006). A quantidade de água interceptada e a duração de filmes d'água nas superfícies foliares determinam as possibilidades para o desenvolvimento, sobrevivência e composição da filosfera (Ruinen 1961). Portanto, as variações das características funcionais foliares associados à minimização do molhamento foliar (e.g. pontas de gotejamento, repelência hídrica foliar) são essenciais para a compreender a suscetibilidade das plantas à cobertura da filosfera. No entanto, estudos anteriores não confirmaram a associação entre as características das folhas e a cobertura da filosfera (Coley et al. 1993, Monge-Nájera and Blanco 1995; Coley and Kursar 1996; Ivey and De Silva, 2001; Lucking and Bernecker Lucking 2005).

A partir do desenvolvimento e avanço das tecnologias genômicas e moleculares o interesse e conhecimento sobre a interação entre micro-organismo e planta hospedeira expandiu-se rapidamente (Friesen et al. 2011). Entretanto, o conhecimento sobre as funções dos micro-organismos da filosfera para a planta hospedeira em sistemas naturais é escasso e a maior parte dos estudos foi conduzida em culturas agrícolas e sistemas de gramíneas (Friesen et al. 2011; Vacher 2016; Thapa & Prasanna, 2018). O conhecimento sobre as funções dos líquens e briófitas presentes nas superfícies foliares é pouco conhecido, sabendo-se mais sobre a sua diversidade do que sobre as suas interações com a planta hospedeira.

Uma vez que as espécies epífilas interagem com as plantas hospedeiras na superfície foliar (Berrie and Eze 1975; Müller and Riederer 2005), seus efeitos podem ser positivos e/ou negativos. Um dos principais efeitos de briófitas, por exemplo, é a redução da fotossíntese em até 30% (Coley et al. 1993). Já em estudo conduzido com líquens, as folhas se aclimataram ao sombreamento e não houve diferença na taxa fotossintética entre folhas sem cobertura de líquens e folhas cobertas por líquens indicando a multiplicidade de interações e respostas entre organismos da filosfera e as folhas (Anthony et al. 2002). Dentre os efeitos positivos, estão o aumento da defesa da planta hospedeira contra herbívoros, em consequência da produção de metabólitos

secundários tóxicos (Mueller and Wolf-Mueller 1991) e a fixação assimbiótica de nitrogênio (Bentley and Carpenter 1984; Bentley 1987; Freiberg 1998).

A filosfera, além de afetar a planta hospedeira, desenvolve papéis essenciais para os processos ecossistêmicos. O aumento da interceptação de água nas folhas das copas das árvores, ocasionado pela presença de briófitas epífilas, pode limitar a entrada de água no solo (Holder 2007; Rosado and Holder 2013). Maior retenção hídrica também pode levar a alterações no processo de decomposição, e espécies com características físicas capazes de proporcionar condições favoráveis, como maior umidade, facilitam a decomposição das espécies que coocorrem no folhíço (Wardle et al. 2003; Makkonen et al. 2013; Almeida 2018).

As folhas, portanto, são a superfície de interação com as epífilas e suas características são determinantes nesta mediação. Características funcionais são importantes indicadores de processos relacionados às respostas das espécies aos fatores ambientais, montagem de comunidades e funcionamento de ecossistemas (Violle et al. 2007; Garnier et al. 2004; Rosado and De Mattos 2010; Rosado et al. 2013; Ackerly 2004; Diaz et al. 2004). Apesar disto, são poucos os estudos que descrevem o papel das características funcionais da planta hospedeira e a interação com os organismos da filosfera e como a presença destes organismos afeta a planta hospedeira (Monge-Nájera and Blanco 1995; Coley and Kursar 1996; Ivey and De Silva 2001, Lucking and Bernecker Lucking 2005; Burd 2007). A importância da avaliação conjunta de características das plantas e características dos organismos constituintes da filosfera têm sido apontadas (Rosado et al. 2018), ressaltando a importância da avaliação da planta como um holobionte, perspectiva que consiste na avaliação integral das funções e interações entre o hospedeiro vegetal e seus micro-organismos associados (Vandenkoornhuysen et al. 2015). Considerar uma planta livre de micro-organismos na natureza é um artefato, já que, segundo Partida-Martinez and Heil (2011) “*A presença de micro-organismos dentro e sobre as plantas deve ser considerada a regra e não a exceção.*” Segundo Rosado et al. (2018), há a necessidade de inclusão dos macroorganismos hospedados pela planta (i.e. líquens e briófitas), além dos micro-organismos, sendo este tipo de abordagem um passo essencial para avanços na ecologia funcional de plantas.

O presente estudo tem por objetivo preencher lacunas existentes quanto ao entendimento de como as características das plantas as tornam susceptíveis à cobertura da filosfera, assim como caracterizar a função das epífilas para o funcionamento da

planta hospedeira e em processos ecossistêmicos. Como os organismos da filosfera podem ocorrer na área externa e interna das folhas, no presente trabalho utilizaremos a definição de filosfera proposta por Morris et al. (2002).

A tese encontra-se estruturada em dois capítulos, em cada um, o problema será abordado em diferentes níveis de investigação.

O Capítulo 1 intitulado “Estado da Arte sobre Comunidades Epifílicas e seus Efeitos sobre Funcionamento vegetal em diferentes escalas”, corresponde ao artigo de revisão da tese. O objetivo do capítulo é avaliar o estado atual dos conhecimentos da ecologia dos organismos epifílicos — contemplando a diversidade de termos — e seus efeitos sobre o funcionamento foliar, individual e ecossistêmico.

Os objetivos do capítulo 2, “Efeito de epífilas sobre crescimento vegetal e fixação biológica do nitrogênio”, são: (1) avaliar como características morfofisiológicas das folhas afetam a cobertura da superfície foliar por organismos epifílicos; (2) como a presença de epífilas influencia a fixação biológica de nitrogênio na filosfera e (3) se a ocorrência de cobertura nas folhas afeta a alocação de biomassa acima do solo entre estações secas e chuvosas na Amazônia.

REFERÊNCIAS

- Anthony PA, Holtum JAM, Jackes BR. 2002. Shade acclimation of rainforest leaves to colonization by lichens. *Functional Ecology*, 16(6):808-816.
- Bentley BL, Carpenter EJ. 1984. Direct transfer of newly-fixed nitrogen from free-living epiphyllous microorganisms to their host plant. *Oecologia*, 63(1):52-56.
- Bradley DJ, Gilbert GS, Parker IM. 2003. Susceptibility of clover species to fungal infection: the interaction of leaf surface traits and environment. *Am J Bot.* 90(6):857–864. doi:10.3732/ajb.90.6.857. <http://dx.doi.org/10.3732/ajb.90.6.857>.
- Coley PD, Kursar TA, Machado J-L. 1993. Colonization of tropical Rain Forest leaves by epiphylls: Effects of site and host plant leaf lifetime. *Ecology*. 74(2):619–623. doi:10.2307/1939322. <http://dx.doi.org/10.2307/1939322>.
- Coley PD, Kursar TA. 1996. Causes and consequences of epiphyll colonization. In: *Tropical Forest Plant Ecophysiology*. Boston, MA: Springer US. p. 337–362.
- Freiberg E. 1998. Microclimatic parameters influencing nitrogen fixation in the phyllosphere in a Costa Rican premontane rain forest. *Oecologia*. 117(1-2):9-18.
- Friesen M, Porter SS, Stark SC, von Wettberg EJ, Sachs JL, Martinez- Romero E. 2011. Microbially Mediated Plant Functional Traits. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 42:23–46. DOI: 10.1146/annurev-ecolsys-102710-145039
- Kembel SW, O'Connor TK, Arnold HK, Hubbell SP, Wright SJ, Green JL. 2014. Relationships between phyllosphere bacterial communities and plant functional traits in a neotropical forest. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 111(38):13715–13720. doi:10.1073/pnas.1216057111. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1216057111>.

Lambais MR, Lucheta AR, Crowley DE. 2014. Bacterial community assemblages associated with the phyllosphere, dermosphere, and rhizosphere of tree species of the Atlantic forest are host taxon dependent. *Microb Ecol.* 68(3):567–574.

doi:10.1007/s00248-014-0433-2. <http://dx.doi.org/10.1007/s00248-014-0433-2>.

Last FT, Deighton FC. 1965. The non-parasitic microflora on the surfaces of living leaves. *Trans Br Mycol Soc.* 48(1):83-IN12. doi:10.1016/s0007-1536(65)80011-0.

[http://dx.doi.org/10.1016/s0007-1536\(65\)80011-0](http://dx.doi.org/10.1016/s0007-1536(65)80011-0).

Last FT. 1955. Seasonal incidence of *Sporobolomyces* on cereal leaves. *Trans Br Mycol Soc.* 38(3):221–239. doi:10.1016/s0007-1536(55)80069-1.

[http://dx.doi.org/10.1016/s0007-1536\(55\)80069-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0007-1536(55)80069-1).

Lindow SE, Brandl MT. 2003. Microbiology of the phyllosphere. *Appl Environ Microbiol.* 69(4):1875–1883. doi:10.1128/AEM.69.4.1875-1883.2003.

<http://dx.doi.org/10.1128/AEM.69.4.1875-1883.2003>.

Lücking R, Matzer M. 2001. High foliicolous lichen alpha-diversity on individual leaves in Costa Rica and Amazonian Ecuador. *Biodiversity & Conservation.* 10(12):2139-2152.

Lücking, A. 1997. Diversity and distribution of epiphyllous bryophytes in a tropical rainforest in Costa Rica. *Abstracta Botanica.* 79-87.

Morris CE, Kinkel LL, Lindow SE, Hecht-Poinar EI, Elliott VJ. 2002. Fifty years of phyllosphere microbiology: significant contributions to research in related fields. 365–375. *Phyllosphere microbiology.* APS Publishing, St. Paul, MN.

- Mueller UG, Wolf-Mueller B. 1991. Epiphyll deterrence to the leafcutter ant *Atta cephalotes*. *Oecologia*. 86(1):36-39.
- Ruinen J. 1956. Occurrence of *Beijerinckia* species in the 'phyllosphere.' *Nature*. 177(4501):220–221. doi:10.1038/177220a0. <http://dx.doi.org/10.1038/177220a0>.
- Ruinen J. 1961. The phyllosphere: I. An ecologically neglected milieu. *Plant Soil*. 15(2):81–109. doi:10.1007/bf01347221. <http://dx.doi.org/10.1007/bf01347221>.
- Thapa S, Prasanna R. 2018. Prospecting the characteristics and significance of the phyllosphere microbiome. *Ann Microbiol*. 68(5):229–245. doi:10.1007/s13213-018-1331-5. <http://dx.doi.org/10.1007/s13213-018-1331-5>.
- Vacher C, Hampe A, Porté AJ, Sauer U, Compant S, Morris CE. 2016. The phyllosphere: Microbial jungle at the plant–climate interface. *Annu Rev Ecol Evol Syst*. 47(1):1–24. doi:10.1146/annurev-ecolsys-121415-032238. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-121415-032238>.
- Vorholt JA. 2012. Microbial life in the phyllosphere. *Nat Rev Microbiol*. 10(12):828–840. doi:10.1038/nrmicro2910. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2910>.
- Ward HM. 1884. VII. On the Structure, Development, and Life-history of a Tropical Epiphyllous Lichen (*Strigula complanata*, Fée, fide, Rev. J. M. Crombie). *Trans Linn Soc Lond 2nd Ser Bot*. 2(6):87–119. doi:10.1111/j.1095-8339.1884.tb00006.x. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1095-8339.1884.tb00006.x>.

1 ESTADO DA ARTE SOBRE COMUNIDADES EPIFILICAS E SEUS EFEITOS SOBRE FUNCIONAMENTO VEGETAL EM DIFERENTES ESCALAS

Resumo

É cada vez mais reconhecido que os organismos presentes na filosfera afetam a fisiologia do hospedeiro e processos ecossistêmicos. Desde a proposição do termo filosfera, na década de 50, pesquisadores utilizaram diversos termos para denominar as comunidades que habitam as folhas, como: filoplano, filosfera, epífitas e epífilas. Ao longo das últimas décadas, diferentes definições para filosfera foram propostas e incluem outros compartimentos da planta hospedeira além das folhas. A diversidade de termos e definições impede uma síntese do conhecimento, sobre a interação entre os organismos da filosfera na biologia da planta hospedeira e nos processos ecossistêmicos em ambientes naturais. Aqui, realizamos uma revisão sistemática e fornecemos uma visão geral da nossa compreensão atual da interação entre epífila e planta hospedeira. Descrevemos o papel ecológico das epífilas demonstrado em alguns estudos, incluindo a proteção contra herbívoros, saúde da planta hospedeira e fixação assimbiótica de nitrogênio. Detectamos que os estudos negligenciaram a diversidade de organismos na filosfera e foram geograficamente restritos. Compreender a interação entre organismos não parasitas com o seu hospedeiro e o funcionamento do ecossistema é fundamental para prever respostas em larga escala às mudanças climáticas. Os avanços metodológicos também abrem novas linhas de investigação de amplo interesse para os ecólogos, incluindo adaptação a ambientes variáveis, manutenção dos processos ecossistêmicos e conservação do holobionte.

Palavras-chave: Filosfera. Epífila. Endófitos. Epífita. Holobionte. Característica Funcional.

1.1 Introdução

Há mais de meio século, Last (1955) denominou a folha como habitat em analogia ao termo rizosfera, na conclusão do artigo “*Seasonal incidence of Sporobolomyces on cereal leaves*”. Em paralelo, Ruinen (1956) observou a existência de um ambiente característico condicionado pela folha e utilizou o termo filosfera com o mesmo sentido de Last (1955). Após alguns anos, o termo filoplano foi proposto em referência à superfície foliar (Last and Price 1969).

Próximo ao cinquentenário do termo filosfera, Morris (2002) expandiu o conceito para incluir as áreas internas e externas da folha: “*The phyllosphere is the microenvironment extending from the leaf surface outward to the outer edge of the boundary layer surrounding the leaf and inward into the leaf tissues.*” Uma ampla gama de organismos habita a superfície das folhas como algas, líquens e briófitas. No caso de fungos e bactérias, além de ocupar a superfície, estes também estão presentes no interior dos tecidos foliares (Ruinen 1961; Coley et al. 1993; Morris 2002). Diversos termos são utilizados para nomear os habitantes da filosfera, sendo a palavra epífita comumente utilizada para referir-se às briófitas e líquens que ocorrem nas superfícies foliares (Berrie and Eze 1974; Coley et al. 1993). Para os micro-organismos o termo epífita é o mais utilizado (Morris et al. 1996) e os organismos que vivem no interior dos tecidos foliares são designados endófitos (Arnold and Herre 2003).

É incomum na natureza uma planta livre de micro-organismos, com todas as plantas em condições naturais, possuindo seu interior e superfície colonizados por diversos micro-organismos em alguma etapa do seu ciclo de vida (Partida-Martinez and Heil 2011). Isso se deve ao fato da água das chuvas ser interceptada pelas folhas, proporcionando um micro-habitat favorável ao estabelecimento e desenvolvimento de comunidades na filosfera (Ruinen 1961; Bentley 1987; Pinokiyo et al. 2006). As plantas em florestas tropicais abrigam uma alta diversidade de organismos e é comum que as plantas tenham a superfície colonizada por briófitas e líquens (Figura 1). A cobertura da filosfera aumenta ao longo da vida útil de uma folha (Ruinen 1961), sendo possível visualizar líquens em folhas com 2 a 3 meses de idade (Hartmann 1993 apud Freiberg 1998). Em aproximadamente dois anos de idade as folhas podem ter 30% da sua superfície coberta ou uma cobertura completa (Coley and Kursar 1993). Apesar das bactérias e fungos não serem visíveis, estão sempre presentes e pode-se supor que

muitos micro-organismos estão em associação as epífilas briófitas, já que a filosfera é considerada um ambiente oligotrófico (Hirano and Upper 2000) e a presença das briófitas proporciona um ambiente úmido e rico em nutrientes (Bentley and Carpenter 1984; Furkranz 2008).

Figura 1 – Diferentes superfícies foliares cobertas por briófitas e líquens.



Legenda: A barra preta representa a escala de 5cm para as fotografias. A) Folha de *Amphyrox longifolia* coletada na Floresta Nacional do Tapajós, Pará. B) Folha de *Manilkara elata* coletada na Floresta Nacional do Tapajós, Pará. C) Folha de espécie não identificada coletada na Floresta Nacional da Tijuca, Rio de Janeiro.

Fonte: A autora, 2022.

A interação entre a planta hospedeira e as epífilas foi demonstrada em diversos estudos, portanto, a folha não é apenas um suporte para estes organismos. Alguns dos efeitos dos organismos presentes na filosfera incluem: o biocontrole de patógenos, o

aumento da resistência do hospedeiro a estresse abiótico e biótico, a produção de hormônios promotores de crescimento (Lindow and Brandl 2003; Vacher et al. 2016; Arora et al. 2018), o aumento do desempenho da planta hospedeira contra herbívoros (Mueller and Wolf-Mueller 1991) e fixação de nitrogênio (Freiberg 1994). No entanto, as pesquisas desenvolvidas ao longo das últimas décadas, foram restritas a elucidação dos processos de colonização foliar e interação entre bactérias e a planta hospedeira (e.g. Lindow and Brandl 2003; Vacher et al 2016; Arora et al. 2018). Apesar dos vários estudos conduzidos sobre comunidades bacterianas da filosfera, a maior parte foi desenvolvida em agrossistemas e sabemos pouco sobre os impactos da ocorrência de bactérias na filosfera de plantas em ambientes naturais.

O crescente interesse pela interação entre micro-organismos e plantas, resultou na publicação de estudos teóricos que enfatizaram a importância da abordagem da planta como holobionte (Partida-Martinez and Heil 2011; Rosado et al. 2018; Carthey et al. 2020). Nessa perspectiva, os diferentes organismos que habitam as plantas influenciam o fenótipo, a função e as interações intraespecíficas entre as plantas hospedeiras (Rosado et al. 2018). Para aumentar o entendimento sobre os efeitos dos organismos da filosfera é essencial compreender como os “múltiplos fenótipos estendidos”, que são derivados da interação entre os organismos da filosfera, impactam o funcionamento da planta hospedeira (Rosado et al. 2018).

As diversas definições e terminologias presentes na literatura (i.e filosfera, filoplano, epífita, epífila, endófito e biofilme) são uma das principais razões para a fragmentação do conhecimento sobre a interação entre filosfera e planta hospedeira. Pode-se esperar que a variedade de termos, ocasione um viés em buscas na literatura e por consequência limite uma síntese do conhecimento sobre o efeito destes organismos para o funcionamento das plantas hospedeiras e a contribuição para os processos ecossistêmicos. Aqui, conduzimos uma revisão sistemática da literatura sobre características das plantas no contexto da interação planta-filosfera, com abrangência da diversidade de terminologias utilizadas, e fornecemos uma visão geral da compreensão atual do efeito da filosfera no funcionamento da folha, do indivíduo e do ecossistema em ambientes naturais. Compreender como os organismos presentes na filosfera afetam a planta hospedeira é vital para prever respostas das plantas hospedeiras às mudanças climáticas e para conservação de populações e comunidades (Carthey et al. 2020; Zhu et al. 2022).

1.2 Material e Métodos

1.2.1 Processo de coleta de dados

Realizamos a pesquisa bibliográfica em todas as bases de dados da Web of Science (WoS) e Scopus em julho de 2021. A pesquisa foi limitada ao período de 1945 a julho de 2021. Utilizamos combinações de termos relevantes, como (epiphyt* OR epiphyll* OR phyllosphere* OR phylloplane* OR foliicolous OR endophyt*) AND (lichen* OR bryophyt* OR bacteria* OR liverwort* OR fung*) AND ("functional trait*" OR ecophysiology OR "leaf characteristic*" OR "leaf feature*" OR "leaf function" OR "leaf trait*" OR "host plant*" OR "host leaves" OR "host plant leaves" OR "plant functioning" OR "ecosystem process*" OR "ecosystem functioning") NOT (marin* OR "marine ecosystem" OR benthic* OR seaweed* OR "aquatic system*" OR stream* OR river* OR headwater* OR orchid* OR bromelia* OR rice* OR sugarcane OR genotype* OR "medicinal secondary metabolites") NOT TÍTULO: (rhizo* OR mycorrhiza* OR "root* nodul*" OR root*). Para completar nosso conjunto de dados, realizamos busca bibliográfica complementar no Google Acadêmico com a combinação de palavras-chave phyllosphere* OR/AND epiphyll*. Todos os registros foram importados para o organizador bibliográfico EndNote e os registros duplicados removidos.

Para a primeira etapa de triagem, importamos um arquivo contendo os registros, ou seja, metadados contendo o texto dos títulos e resumos para o software ASReview (van de Schoot et al. 2021). Posteriormente, selecionamos artigos relevantes e não relevantes para treinar o modelo de classificação do software. O modelo foi treinado para prever a relevância de cada estudo registrado. A partir do modelo, os títulos e resumos foram ordenados do mais para o menos provável de serem relevantes. A partir da leitura do título e resumo classificamos os registros como relevantes ou irrelevantes. Na segunda etapa da triagem, examinamos o texto completo dos estudos classificados como relevantes na primeira etapa (o número de artigos em cada fase é relatado no fluxograma, Figura 1). Para identificar estudos relevantes não encontrados nas bases de dados, pesquisamos artigos que foram citados em artigos elegíveis (forward search) e artigos que citaram artigos elegíveis (backward search).

Os estudos deveriam atender aos seguintes critérios para serem incluídos na revisão sistemática: (1) plantas hospedeiras em condições naturais e/ou plantas

hospedeiras silvestres; (2) avaliação dos organismos ocorrentes no compartimento foliar; (3) experimentos realizados em campo ou em ambientes controlados (i.e. laboratório, câmara de crescimento ou casa de vegetação); (4) quando realizadas comparações o desenho do experimento incluiu grupo controle sem cobertura foliar por epífilas e grupo com cobertura foliar.

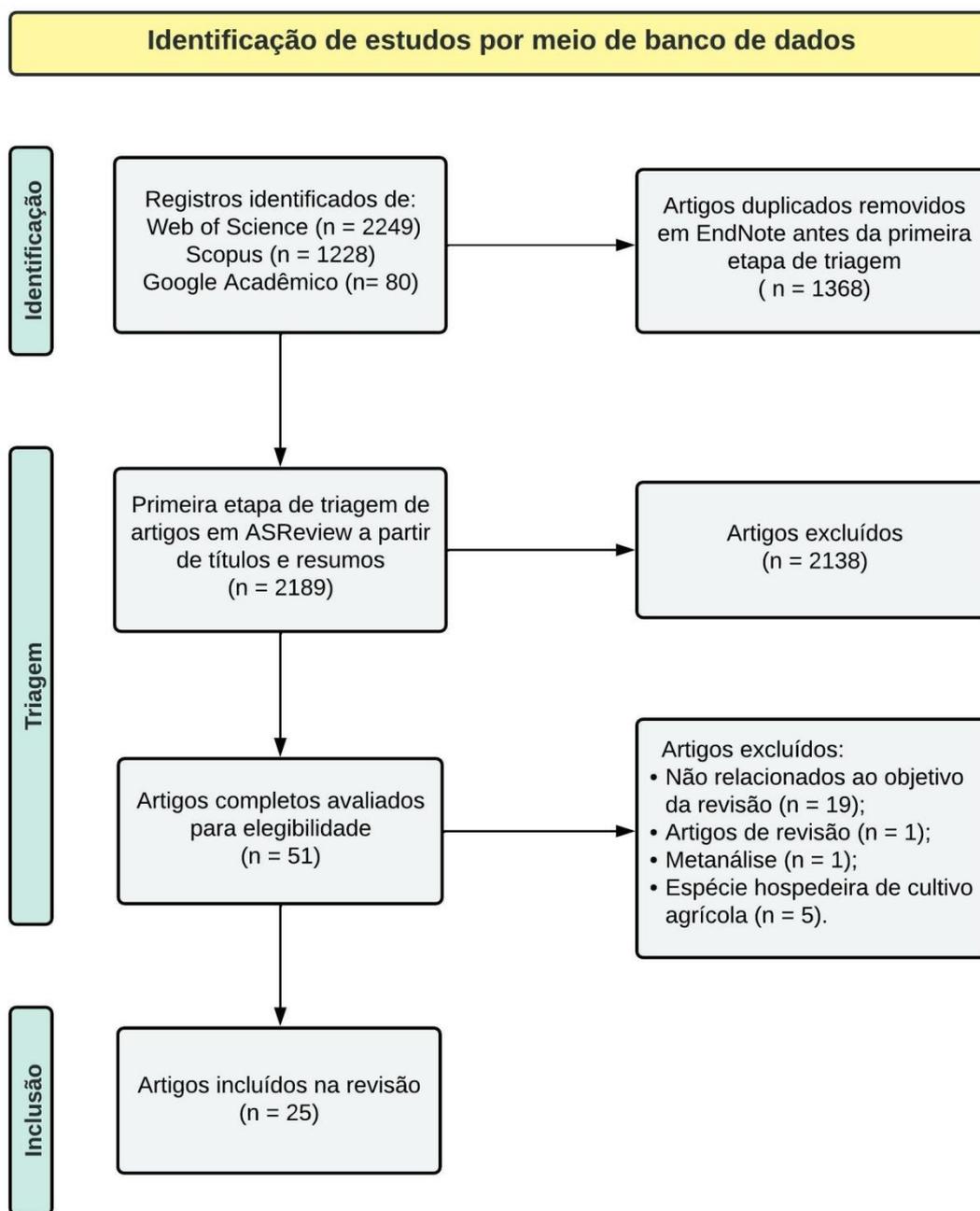
A taxonomia das plantas hospedeiras foi verificada usando o The Plant List e adicionalmente o Serviço de Resolução de Nomes Taxonômicos v4.0 (Boyle et al. 2013). As relações filogenéticas das espécies hospedeiras em nosso conjunto de dados final foram construídas usando o pacote R V.PhyloMaker (Jin and Qian 2019). As características mensuradas na planta hospedeira foram separadas em oito categorias que incluem diferentes aspectos do funcionamento da planta (Tabela 1) (Kattge et al. 2011; Pérez-Harguindeguy et al. 2013; Griffin-Nolan et al. 2018) e foram abordadas a partir da perspectiva dos eixos de estratégias das plantas (Rosado et al. 2018).

Tabela 1. Definições das categorias utilizadas para classificar as características mensuradas nos estudos incluídos na revisão sistemática. As definições foram modificadas a partir das apresentadas por Pérez-Harguindeguy et al. (2013) e Griffin-Nolan et al. (2018).

Categoria	Definição	Exemplos
Planta inteira	Características da planta inteira, como altura da planta ou forma de vida; forma de crescimento e taxa de crescimento relativo.	Taxa de crescimento relativo, volume de caule acima do solo.
Morfológico foliar	Características morfológicas das folhas associadas a aspectos da função foliar.	Conteúdo de água foliar, massa de folha por unidade de área, área foliar danificada por patógenos ou herbívoros.
Bioquímico	Características relacionadas ao uso e concentração de nutrientes nas plantas.	Concentração de proteínas foliares, perfil metabólico, conteúdo de nitrogênio.
Fotossintético	Características relacionadas a captura de luz, trocas gasosas e assimilação de carbono.	Radiação fotossinteticamente ativa, conteúdo de clorofila.
Hidráulico	Características relacionadas ao status hídrico, transporte de água e armazenamento de água.	Perda de água foliar, permeabilidade cuticular a água.
Fenológico	Características associadas a padrões fenológicos e padrões demográficos foliares.	Retenção de folhas.
Subterrâneo	Características da raiz.	Biomassa radicular.
Ecossistêmico	Características relacionadas a processos ecossistêmicos.	Fixação biológica de nitrogênio.

Fonte: A autora, 2022.

Figura 1 – Fluxograma de seleção dos artigos para a revisão sistemática adaptado do modelo de diagrama de fluxo PRISMA 2020 para revisões sistemáticas.

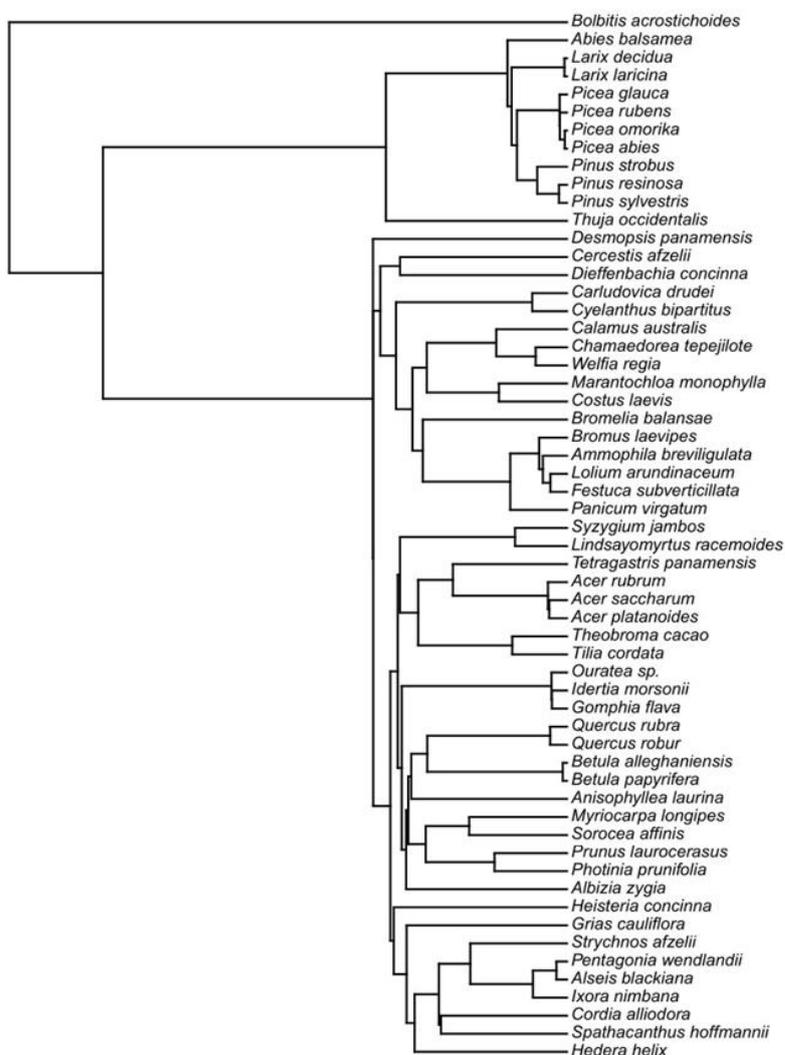


Fonte: A autora (2022).

1.3 Resultados e Discussão

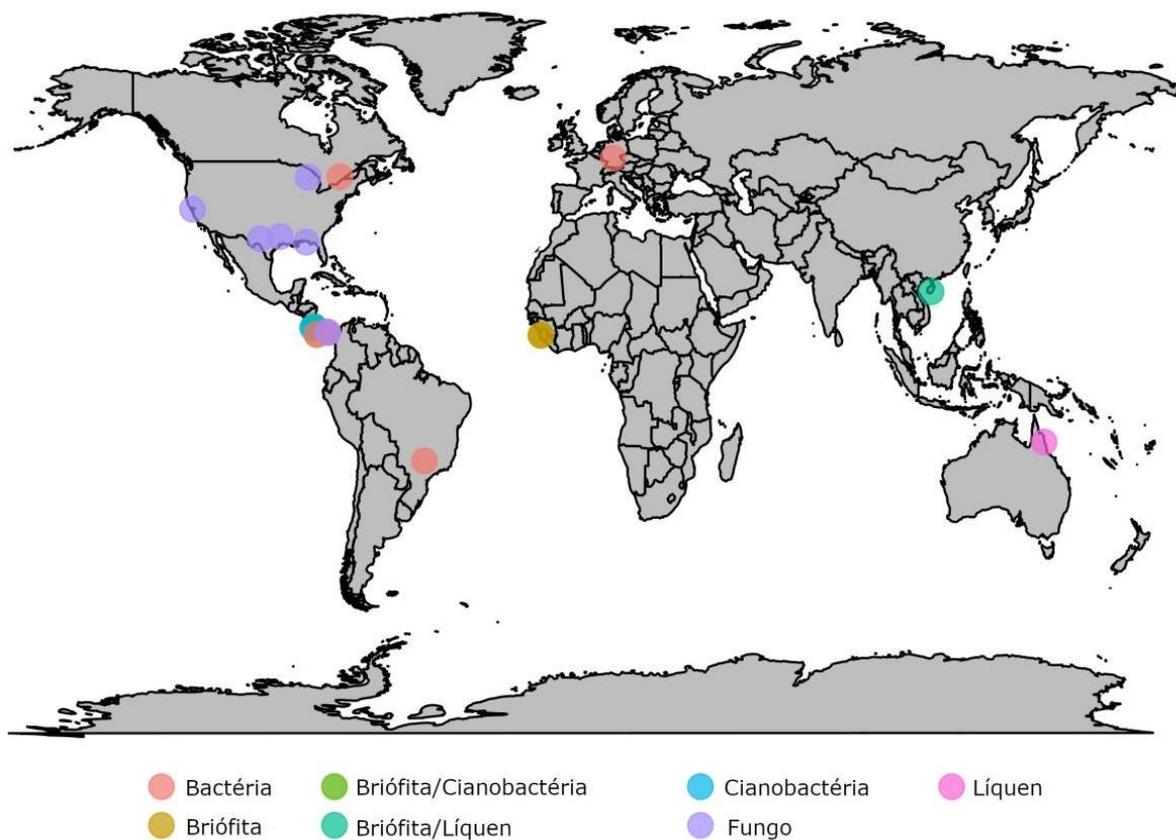
A partir dos critérios previamente estabelecidos, nosso conjunto de dados final incluiu 25 artigos reportados em 16 periódicos revisados por pares (para obter mais detalhes, consulte a Tabela S1) do total de 3557 registrados no processo de coleta de dados (Figura 1). No total, 58 espécies de plantas hospedeiras de 32 famílias foram investigadas quanto a sua interação com as epífilas (Figura 2). Entre as espécies estudadas, *Theobroma cacao* foi a espécie hospedeira com mais avaliações.

Figura 2 – Árvore filogenética das espécies de plantas hospedeiras.



Nossa análise incluiu estudos realizados em 9 países, entre os quais o Panamá foi o país líder com 8 artigos de pesquisa originais publicados (32%), seguido pela Costa Rica e os Estados Unidos com 5 artigos de pesquisa originais publicados cada (20%) (Figura 3). A maioria dos estudos conduzidos no Panamá (75%) foi realizada no mesmo local, a Ilha Barro Colorado, além de investigarem a interação entre a mesma espécie hospedeira *Theobroma cacao* e a espécie de fungo endofítico *Colletotrichum tropicale*.

Figura 3 – Localização dos estudos incluídos na revisão sistemática (n = 25). Pontos de diferentes cores representam a avaliação de diferentes organismos da filosfera.



Fonte: A autora, 2022.

As espécies presentes na filosfera foram bastante diversificadas e 84% dos estudos avaliaram a interação da planta hospedeira com apenas um organismo. Nas últimas cinco décadas, os estudos avaliaram a interação das plantas hospedeiras com residentes fúngicos (44%), bacterianos (20%), briófitas (16%), briófitas e líquens (8%), briófitas associadas a cianobactérias (4%) e cianobactérias (4%).

1.3.1 Negligenciando a co-ocorrência dos organismos da filosfera: avaliações quase sempre par a par

Apesar de várias espécies coexistirem na filosfera, em geral, no nosso conjunto de dados os estudos foram conduzidos com um único táxon ocorrente na filosfera. Durante o crescimento até a senescência da folha, ocorrem mudanças na população da filosfera. As rápidas mudanças nas condições ambientais e baixa disponibilidade de recursos caracterizam a filosfera como um ambiente hostil (Yang et al. 2001; Lindow and Brandl 2003). Na fase inicial do desenvolvimento das comunidades na filosfera, as bactérias oligotróficas presentes na superfície foliar alteram propriedades químicas e físicas da cutícula (Ruinen 1961). A partir da liberação de surfactantes, que aumentam a molhabilidade foliar e a permeabilidade da cutícula a água (Bunster et al. 1989; Schreiber et al. 2005), há uma maior exsudação de nutrientes provenientes da folha do hospedeiro. Os nutrientes provenientes do exsudato da folha fornecem um substrato adequado para outras epífilas com maiores exigências nutricionais (Ruinen 1961).

Briófitas epífilas são capazes de absorver água e capturar nutrientes da água da chuva, além de uma alta capacidade de retenção de nitrogênio (Wanek and Pörtl 2005). Também são responsáveis por lixiviar quantidades consideráveis de compostos orgânicos na superfície foliar (Coxson et al. 1992; Wanek and Pörtl 2005). As características presentes nas briófitas epífilas favorecem a ocorrência de micro-organismos, como bactérias, nas próprias briófitas (Furkranz 2008). Em estudo recente desenvolvido na Amazônia, a comunidade bacteriana das folhas foi positivamente relacionada com uma maior cobertura foliar por líquens e briófitas (Moreira, 2019). Portanto, as populações de organismos residentes na filosfera podem estar associadas e serem influenciadas pela própria composição da filosfera.

Alguns líquens possuem capacidade de reter água três vezes mais baixa em comparação a briófitas (Pipker et al. 2006). Ainda podem produzir e secretar compostos hidrofóbicos na superfície foliar (Lakatos et al. 2006; Honegger 2007). Ou seja, em uma mesma folha, organismos de um mesmo "grupo", como os líquens, podem desempenhar efeitos divergentes em consequência da heterogeneidade das características de resposta (Rosado and Almeida 2020).

Apesar das possibilidades de interação entre os organismos na filosfera, as investigações sobre os efeitos no hospedeiro são realizadas com avaliações par a par.

Avalia-se um grupo de organismos (e.g. briófitas, bactéria, fungo) e seu efeito sobre o hospedeiro vascular. Embora este tipo de abordagem seja importante, não é capaz de capturar os efeitos não aditivos das múltiplas interações entre os organismos da filosfera e as folhas. Neste sentido, o resultado final dos efeitos da filosfera sobre a planta não podem ser acessados por avaliações par a par, uma vez que as folhas são comunidades cujo funcionamento depende das características, cobertura e composição das espécies da filosfera (Mezaka et al. 2022)

Dos estudos incluídos em nossa revisão, apenas dois avaliaram mais de um grupo de organismos da filosfera em conjunto. Cianobactérias e briófitas, foram avaliados em relação a fixação biológica de nitrogênio (Bentley and Carpenter 1984), enquanto líquens e hepáticas foram avaliados quanto à influência nas taxas de herbivoria (Mueller and Wolf Mueller 1991). Outros estudos avaliaram mais de um organismo, entretanto, a avaliação ocorreu de maneira independente. Foram avaliadas folhas com fungos e outras folhas ou ainda outros fragmentos com bactérias (Gargallo-Garriga 2016). A avaliação dos efeitos dos líquens e briófitas também ocorreu de maneira isolada (Coley et al. 1993, Zhou et al. 2014).

Devemos considerar que os organismos que compõem a filosfera não apresentam as mesmas características de efeito no hospedeiro. Os organismos podem se influenciar diretamente, por exemplo, por meio de estratégias de captação e troca de recursos. Neste sentido, sugerimos que os estudos que busquem avaliar como a filosfera afeta o funcionamento da planta sejam feitos com o entendimento de que a folha é um ecossistema. Portanto, estudos manipulativos que possam avaliar o efeito da biodiversidade da filosfera sobre o funcionamento do ecossistema foliar é uma etapa fundamental na ecologia funcional de plantas. Além disso, uso de experimentos manipulativos com microcosmos pode trazer avanços na ecologia de ecossistemas.

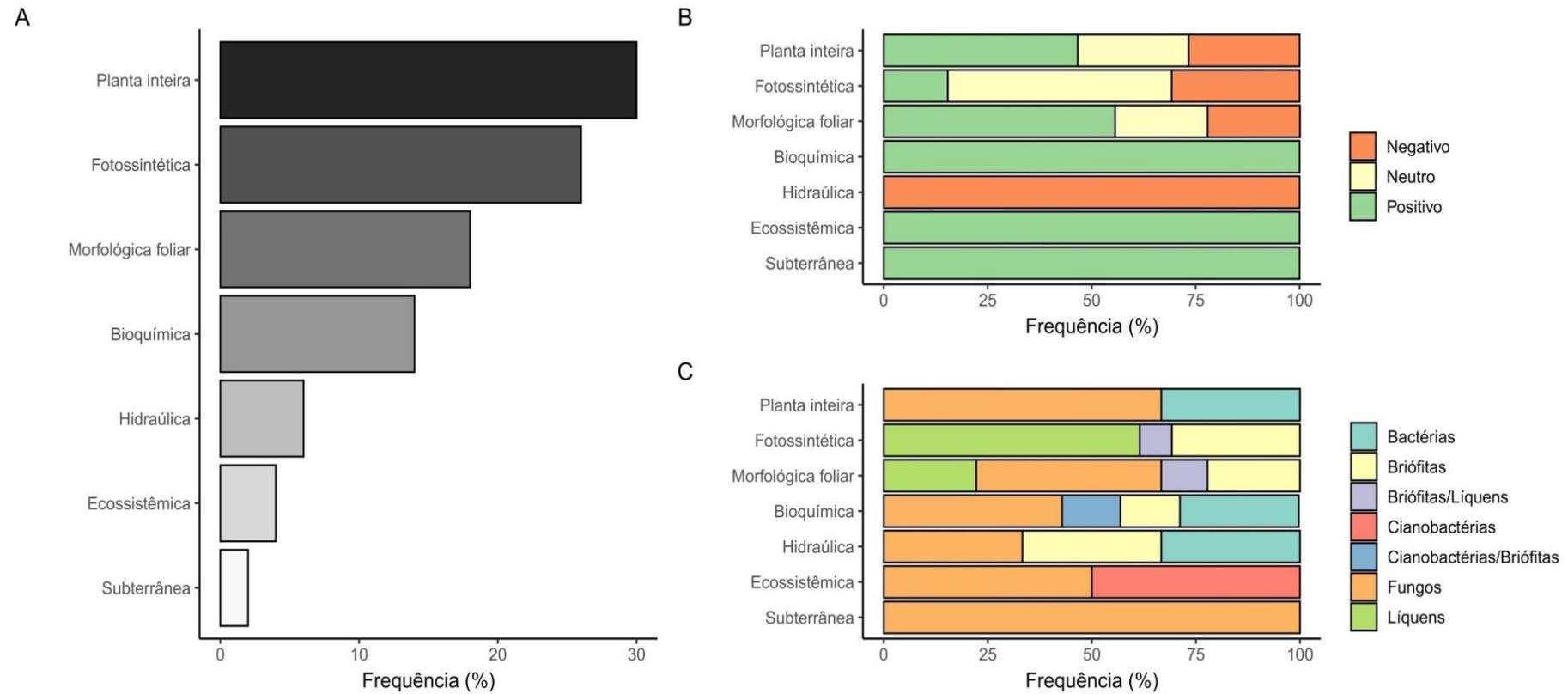
1.3.2 Quais características são medidas e como elas se associam às estratégias ecológicas?

As características funcionais das plantas são importantes descritores das interações da planta com seu ambiente. Estratégias de uso de recursos das espécies podem ser definidas a partir da combinação de características funcionais das plantas que maximizem padrões de alocação de recursos (Smith and Huston 1989). As espécies dentro de uma estratégia têm características semelhantes que as levam a exibir uma ecologia similar em relação aos padrões particulares de uso de recursos (Lavorel et al. 1997; Westoby et al. 2002; Wright et al. 2007).

Em nosso conjunto final de dados, identificamos um total de 29 características. Observamos que as publicações têm-se centrado em investigações sobre a planta inteira (30%), que engloba características relacionadas ao crescimento das plantas. Outras abordagens, foram direcionadas a interação da filosfera com características relacionadas à fotossíntese (26%). A morfologia das folhas foi investigada principalmente em interações com herbívoros e patógenos, correspondendo a 18% dos artigos incluídos na presente revisão. Por outro lado, poucos estudos avaliaram as características hidráulicas (6%), características relacionadas a processos ecossistêmicos (4%) e características da raiz (2%) (Figura 3).

Nas próximas seções, discutiremos brevemente sobre os efeitos da filosfera em cada um destes processos. Apesar da relevância dos estudos e dos resultados apontados, ressaltamos como a escassez de trabalhos sobre o tema impede uma generalização robusta sobre o papel da filosfera para cada um dos processos discutidos ao longo da nossa revisão.

Figura 3 – Porcentagem das categorias de características mensuradas para avaliar o efeito da filosfera no hospedeiro, alguns estudos avaliaram características correspondentes a mais de uma categoria (A). Representamos a proporção (barras empilhadas) das relações estatisticamente significativas ($p < 0,05$), bem como a direção das relações (negativo, positivo) e as relações não significativas ($p > 0,05$) classificadas como neutras (B).



Fonte: A autora, 2022.

1.3.3 Fotossíntese

Um dos efeitos mais citados em publicações ao abordar as consequências da presença de epífilas em superfícies foliares, é a redução da interceptação de luz e consequente redução da capacidade fotossintética da folha hospedeira (Coley et al. 1993). Entretanto, em nossa revisão encontramos apenas dois estudos que mensuraram características relacionadas à interceptação de luz por epífilas e capacidade fotossintética.

Folhas de plantas cobertas por briófitas foram avaliadas quanto à interceptação de luz e radiação fotossinteticamente ativa. A cobertura epifítica de aproximadamente 45% reduziu a interceptação de luz em 55% – 85% em folhas com 2 anos de idade. A partir dos resultados obtidos, estima-se que a fotossíntese tenha uma redução mínima de 20% (Coley et al. 1993). Outros estudos, também sugerem que o sombreamento pode reduzir a fotossíntese das folhas do hospedeiro em 20 – 30% (Sand-Jensen 1977; Roskoski 1981). Apesar do sombreamento resultante da presença de epífilas não foram identificadas reduções significativas nas taxas fotossintéticas da planta hospedeira. Foram observados mecanismos de aclimação ao sombreamento na planta hospedeira, semelhantes aos mecanismos apresentados por plantas tolerantes à sombra (Anthony et al. 2002). Uma das formas de compensação ao sombreamento foi o aumento no conteúdo de clorofila nas folhas cobertas por líquens e não houve diferença significativa no ganho líquido de CO₂.

Estas observações são consistentes com a relação positiva encontrada entre a cobertura da superfície foliar por líquens e aumento no conteúdo de clorofila (Zhou et al. 2014). Em contrapartida, a presença da briófito *Radula flaccida* não alterou o conteúdo de clorofila em folhas com cobertura ou sem (Eze and Berrie 1977). A principal desvantagem atribuída a colonização da superfície foliar (i.e. redução fotossintética) é uma estimativa e foi mensurada de forma direta por apenas um estudo. As evidências publicadas não são suficientes para generalizar que briófitas, líquens e outras epífilas reduzem taxas fotossintéticas da planta hospedeira.

Como consequência da redução fotossintética, é sugerido que a presença de epífilas afete negativamente o incremento de biomassa da planta hospedeira (Toomey et al. 2009; Huete et al. 2006). A partir dos resultados de experimentos que avaliaram características da planta inteira, como a taxa de crescimento relativo e biomassa acima

do solo, foram observadas interações positivas entre a presença de epífilas bactérias ou fungos e crescimento da planta hospedeira (Laforest-Lapointe et al. 2017, Giauque et al. 2019). É provável que as diferentes espécies presentes na filosfera atuem conferindo benefícios para a planta hospedeira.

1.3.4 Características Morfológicas Foliaves das Plantas Hospedeiras

1.3.4.1 Recurso

Características das plantas, incluindo características relacionadas à morfologia, possibilitam o entendimento das estratégias das plantas para adquirir recursos. Duas características morfológicas relacionadas ao eixo de estratégia de recursos, massa de folha por unidade de área e conteúdo de água foliar, foram avaliadas em folhas cobertas por líquens e folhas cobertas por briófitas (Zhou et al. 2014).

A massa de folha por unidade de área (MFA) representa o custo de construção da folha em termos de carbono (Witkowski and Lamont 1991). Valores altos de MFA são associados a uma maior alocação em biomassa estrutural e menor em tecido fotossintético, o que pode aumentar o tempo de retorno do carbono que foi investido na construção foliar (Wright et al. 2002). Espécies com altos valores de MFA têm mostrado uma maior longevidade foliar em diversos ambientes, consequência das folhas mais resistentes a danos físicos e herbívoros (Chabot and Hicks 1982, Reich et al. 1999; Wright et al. 2002; 2004). Neste estudo, as folhas com cobertura total de líquens exibiram MFA menor. Em comparação com folhas cobertas por líquens, as folhas cobertas por briófitas apresentaram valores menores de MFA. Estas relações só foram encontradas quando a cobertura da superfície foliar atingiu no mínimo 50% (Zhou et al. 2014).

No contexto da interação da filosfera — recurso — fotossíntese, uma combinação de características pode resultar em respostas semelhantes. As folhas com > 50% de cobertura, baixos valores de MFA e maior conteúdo de clorofila podem ter a mesma capacidade fotossintética que as folhas com < 50% de cobertura, valores de MFA mais altos e menor conteúdo de clorofila. Esta combinação possibilita a

manutenção da capacidade de capturar luz mesmo com a superfície foliar sombreada por organismos da filosfera.

1.3.4.2 Defesa

As interações entre plantas e herbívoros desempenham um papel fundamental na biodiversidade e no funcionamento de ecossistemas (Endara and Coley, 2011). A perda de biomassa foliar é o principal efeito da herbivoria e, com a redução da área fotossintética, há um aumento da mortalidade e diminuição do sucesso reprodutivo da planta (Coley 1985, Scheidel 2001). Defesas químicas e mecânicas foram aprimoradas pelas plantas, em consequência da pressão seletiva exercida por herbívoros (Coley and Barone 1996). Um dos benefícios da relação entre filosfera e planta hospedeira, consiste na proteção da folha contra herbívoros. Ao alterar a palatabilidade das folhas, os organismos da filosfera podem representar uma defesa física. Além disso, também atuam na defesa química ao produzir metabólitos secundários tóxicos para os herbívoros (Mueller and Wolf Mueller 1991).

A formiga cortadeira *Atta cephalotes* foi exposta a folhas cobertas por hepáticas, folhas cobertas por líquens e folhas com a cobertura epifítica removida. O herbívoro escolheu seletivamente amostras com a cobertura removida. Este resultado demonstra que a cobertura da folha por líquens e hepáticas reduz os danos causados por formigas cortadeiras (Mueller and Wolf Mueller 1991). Em experimento semelhante ao realizado por Mueller & Wolf Mueller (1991), a preferência da formiga *Atta colombica* foi quantificada. Formigas foram expostas a tecidos foliares com alta densidade de fungos e a tecidos foliares com baixa densidade de fungos. O tecido foliar com alta densidade de fungos foi cortado 2,5 vezes menos, quando comparado aos tecidos com baixa densidade de fungos (Bittleston et al. 2010). Danos mecânicos, como os provenientes da herbivoria, induzem a produção do hormônio jasmonato. A presença do jasmonato pode modificar o ambiente enfrentado por bactérias na filosfera, em diferentes indivíduos da mesma espécie vegetal (Humprey et al. 2014). Portanto, os herbívoros e os organismos da filosfera produzem efeitos um no outro.

Em compensação à diminuição da herbivoria, a cobertura da superfície foliar aumenta a susceptibilidade a patógenos. Algumas espécies de líquens não estão restritas

ao ambiente supra cuticular e crescem entre a cutícula e a epiderme (Santesson 1952). Folhas com densa cobertura de briófitas têm áreas necróticas que se espalham abaixo das colônias (Berrie and Eze 1975). Danos foliares causados por briófitas e líquens possibilitam o acesso de patógenos ao interior do tecido foliar (Jones and Dangl 2006). A alteração da molhabilidade da superfície foliar é outro mecanismo que favorece o estabelecimento de patógenos. Superfícies que permanecem úmidas por mais horas, são mais propensas à infecção por patógenos (Arnold and Engelbrecht 2007; Rosado and Almeida 2020).

Plântulas expostas a serapilheira de adultos saudáveis e sua filosfera associada, tiveram o seu microbioma enriquecido com o fungo *Colletotrichum tropicale*, que aumenta a resistência a patógenos e exibiram menor dano patogênico (Christian et al. 2017). Portanto, a filosfera atua na regulação das vias defensivas da planta hospedeira. No contexto da planta como holobionte, o papel da filosfera sobre a defesa vegetal é um dos tópicos mais complexos a serem investigados. O efeito da filosfera na saúde da planta hospedeira depende da complexa interação entre as características de cada organismo da filosfera, com efeitos positivos ou negativos. Além das vias de regulação metabólica da planta hospedeira e também da interação com os herbívoros.

1.3.4.3 Hidráulico

O contato direto das epífilas com a cutícula as torna potencialmente capazes de influenciar as relações hídricas da planta hospedeira. Briófitas, líquens, bactérias e fungos presentes na superfície foliar interferem positiva ou negativamente nas propriedades de molhabilidade da folha. Folhas cobertas por briófitas retêm uma maior quantidade de água, permanecendo úmidas por um período maior de tempo em comparação a folhas sem cobertura (Berrie and Eze 1975). Portanto, a presença de briófitas nas folhas pode aumentar a molhabilidade foliar e favorecer processos como reidratação e absorção de água foliar.

Em geral, as investigações sobre a interferência da filosfera nas propriedades de molhabilidade das folhas estão restritas a bactérias, ou ainda a experimentos realizados em superfícies artificiais (Bunster et al. 1989; Knoll and Schreiber 1998, 2000). Schreiber et al. (2005) isolaram a cutícula da espécie *Hedera helix* para investigar o efeito da presença de bactérias na permeabilidade cuticular da água. As bactérias foram

capazes de alterar propriedades físico-químicas das superfícies foliares, aumentaram a molhabilidade e a permeabilidade cuticular à água em 50%. Alterações na permeabilidade da superfície foliar interferem na difusão de água, solutos e nas taxas de transpiração cuticular (Kerstiens 1996; Fernández et al. 2017).

Em estudos recentes, a absorção de água pelas folhas foi observada como uma fonte alternativa de recurso hídrico. Portanto, o mecanismo de absorção via foliar aumenta a chance de sobrevivência vegetal em situações de seca (Burgess and Dawson 2004; Oliveira et al. 2005; Eller et al. 2013). Apesar do processo de absorção foliar de água receber mais atenção, ressaltamos que a filosfera é uma importante mediadora neste processo que ainda não é bem compreendido (Rosado et al. 2018; Rosado and Almeida 2020). Por exemplo, hifas de fungos entram nos estômatos e podem atuar como condutores de água e promover a absorção via folha. Além disso, outros organismos da filosfera podem afetar a abertura dos estômatos, uma importante via de entrada de água (Burgess and Dawson 2004; Rosado et al. 2018; Rosado and Almeida 2020). No entanto, faltam estudos que meçam a contribuição de fungos, briófitas e líquens sobre a absorção foliar de água.

A absorção de água via folha tem progressiva relevância para o entendimento sobre a mortalidade de plantas à variação na disponibilidade hídrica (Schreel and Steppe, K. 2020). O fluxo de água nas plantas não se dá apenas no contínuo solo-planta-atmosfera, mas também no contínuo atmosfera-planta-solo (Boanares et al. 2020). Portanto, é crucial que os organismos que atuam na interface entre dois destes compartimentos (atmosfera-planta) sejam incluídos nos modelos e estudos experimentais.

1.3.5 Ecosistêmico

O conhecimento sobre o papel da filosfera em processos ecossistêmicos em ambientes naturais é escasso. A partir das informações que apresentamos, pode-se supor que a filosfera atua mediando alguns processos ecossistêmicos. Por exemplo, ao repelir ou reter água no folhíço, pode ocorrer alteração do microclima, favorecendo a decomposição (Almeida 2018). A taxa de decomposição é influenciada por características do espectro econômico foliar (Santiago 2007), que podem ser influenciadas pela filosfera ao interferir na capacidade de o hospedeiro obter recursos.

Ou ainda, afetar a comunidade decompositora por intermédio dos metabólitos secundários e alteração da palatabilidade (Coq et al. 2010).

Apesar dos indícios da mediação da filosfera nos processos ecossistêmicos, apenas a fixação biológica de nitrogênio (FBN) foi investigada. A FBN ocorre predominantemente nas folhas e é principalmente mediada por micro-organismos associados às briófitas que ocorrem na filosfera (Vitouser et al. 2002; Wanek and Pörtl 2005). O efeito da cobertura da filosfera para a FBN é positivo, uma vez que, os principais fixadores de nitrogênio são as cianobactérias de vida livre, bactérias e cianobactérias em associações simbióticas, bactérias heterotróficas e líquens (Vitouser et al. 2002) e vários destes se estabelecem nas superfícies foliares.

Freiberg (1998) investigou quais fatores microclimáticos influenciam a fixação de nitrogênio na filosfera e qual seria mais importante em uma floresta tropical pré-montana na Costa Rica. As folhas com maior cobertura de cianobactérias exibiram as maiores taxas de FBN. Além disso, a idade das folhas foi positivamente relacionada ao aumento da cobertura e ao aumento da FBN. Da mesma forma, a presença das briófitas nas folhas influenciou positivamente a FBN por intermédio do retardamento da secagem da superfície foliar. Portanto, briófitas mantêm um ambiente adequado para as atividades dos fixadores de nitrogênio. Do mesmo modo, outros estudos associaram maiores taxas de FBN as plantas que exibiram maior cobertura por briófitas (Wanek and Pörtl 2005, Fűrnkranz et al. 2008).

Dada a importância da fixação biológica de nitrogênio para os ecossistemas e da interação dos micro-organismos fixadores do nitrogênio com outros componentes da filosfera, fica a pergunta: como se dará o ciclo de nitrogênio nas florestas tropicais em um cenário de mudanças climáticas? Recentemente, He et al. (2018), revisaram diversos estudos que demonstraram declínios consideráveis nas taxas de crescimento de briófitas em árvores tropicais resultantes de apenas um aumento sutil na temperatura do ar. O declínio da diversidade e das populações de briófitas, incluindo as que vivem sobre as folhas, acabará por levar a uma alteração na estrutura e função dos ecossistemas (He et al. 2018).

1.3.6 E as características da filosfera?

As características das plantas foram usadas para avaliar a interação filosfera — planta em todos os estudos incluídos nesta revisão. Mas, em geral, as características dos organismos presentes nas folhas das plantas não foram consideradas. Na avaliação conduzida por Anthony et al. (2002) a interceptação de luz variou de acordo com a morfologia e coloração do talo do líquen. Por exemplo, *Arthonia trilocularis* possui o talo fino que permitiu a passagem de 70% de luz para a folha hospedeira. Já os líquens que possuem pigmentos escuros podem interceptar maiores quantidades de luz.

Divergências encontradas entre os resultados que avaliaram um mesmo efeito no hospedeiro vegetal podem ter relação com o tipo de abordagem focada nos organismos da filosfera (e. g. líquens e briófitas). Esta pode não ser a melhor forma de abordagem, uma vez que desconsidera os conceitos de características funcionais de resposta e efeito. Além disso, não podemos esperar que todas as espécies de um grupo apresentem os mesmos efeitos, uma vez que podem possuir diferentes características de resposta. Por último, não podemos desconsiderar a coocorrência dos organismos na filosfera, já que o efeito que se dará no organismo hospedeiro pode corresponder ao conjunto dos organismos presentes na filosfera da sua abundância proporcional.

Não necessariamente a filosfera não exerce efeitos sobre seus hospedeiros em condições naturais. É provável que a falta de detecção do efeito esteja sob influência de como as avaliações são conduzidas de forma fragmentada. Neste sentido, um aspecto fundamental a ser incorporado nas avaliações do efeito da filosfera sobre o hospedeiro e processos ecológicos, são as características de efeito dos organismos que compõem a filosfera. Ou seja, o papel funcional das espécies em afetar outros organismos e níveis tróficos (Rosado et al. 2016). Dada a ampla riqueza de espécies da filosfera em regiões tropicais e sua dependência por água, pode-se esperar uma redução destes organismos, como consequência da intensificação dos eventos de seca. Neste sentido, reduções na cobertura da filosfera e perda de alguns destes organismos podem afetar diretamente as respostas das plantas hospedeiras em regiões tropicais a partir da mudança do fenótipo estendido, ou seja, do holobionte. Isto pode levar a alterações na estrutura da comunidade, hierarquias competitivas e mecanismos de coexistência nas comunidades.

1.4 Considerações finais

É necessário identificar características apropriadas que reflitam de maneira adequada o efeito da filosfera no hospedeiro vegetal. Os relacionamentos fracos ou não identificados nos estudos apresentados (Figura 3, B) podem ser atribuídos a uma seleção inadequada de características, a seleção apenas de características do hospedeiro e a diversas composições da filosfera e respectivas variações de características da comunidade.

As relações fisiológicas entre filosfera e hospedeiro foram objeto de algumas observações e especulações, mas são poucos os relatos de trabalhos experimentais. Os estudos da presente revisão utilizaram características funcionais mais abstratas, por exemplo, massa de folha por unidade de área. Uma abordagem que investigue as “características mecanicistas” com claras funções fisiológicas (Brodrribb, 2017), pode representar um importante avanço para o entendimento da interação filosfera — hospedeiro.

A filosfera pode ter uma importante influência no funcionamento hidráulico do hospedeiro. Entretanto, relatamos apenas dois estudos que abordaram este tópico. De fato, o entendimento do funcionamento hidráulico das plantas torna-se ainda mais importante no contexto de mudanças climáticas.

Abordar a interação filosfera — hospedeiro não é trivial e possui um alto grau de complexidade associado à diversidade dos organismos que podem compor a filosfera. Entretanto, é necessário reconhecer a relevância destes organismos nos mais diferentes níveis de investigação e ambientes.

REFERÊNCIAS

Anthony PA, Holtum JAM, Jackes BR. 2002. Shade acclimation of rainforest leaves to colonization by lichens. *Functional Ecology*, 16(6):808-816.

Arnold AE, Engelbrecht BM. 2007. Fungal endophytes nearly double minimum leaf conductance in seedlings of a neotropical tree species. *Journal of Tropical Ecology*. 23(3):369-372.

Arnold AE, Herre EA. 2003. Canopy cover and leaf age affect colonization by tropical fungal endophytes: ecological pattern and process in *Theobroma cacao* (Malvaceae). *Mycologia*. 95(3):388-398.

Arora NK, Khare E, Mishra J. 2018. Multifaceted interactions between endophytes and plant: developments and prospects. *Frontiers in microbiology*. 9: 2732.

Bell-Dereske L, Takacs-Vesbach C, Kivlin SN, Emery SM, Rudgers JA. 2017. Leaf endophytic fungus interacts with precipitation to alter belowground microbial communities in primary successional dunes. *FEMS microbiology ecology*. 93(6).

Bentley BL, Carpenter EJ. 1984. Direct transfer of newly-fixed nitrogen from free-living epiphyllous microorganisms to their host plant. *Oecologia*, 63(1):52-56.

Berrie GK, Eze JMO. 1975. The relationship between an epiphyllous liverwort and host leaves. *Annals of Botany*. 39(4):955-963.

Bittleston LS, Brockmann F, Wcislo W, Van Bael SA. 2010. Endophytic fungi reduce leaf-cutting ant damage to seedlings. *Biology Letters*. 7(1):30-32.

Boanares D, Oliveira RS, Isaias RMS, França MGC, Peñuelas J. 2020. The neglected reverse water pathway: Atmosphere-plant-soil continuum. *Trends Plant Sci*. 25(11):1073–1075. doi:10.1016/j.tplants.2020.07.012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2020.07.012>.

Boyle B, Hopkins N, Lu Z, Garay Jar, Mozzherin D, Rees T, ... & Lowry S. 2013. The taxonomic name resolution service: an online tool for automated standardization of plant names. *BMC bioinformatics*. 14(1):16.

Brodribb, T. J. 2017. Progressing from ‘functional’ to mechanistic traits. *New Phytologist*. 215(1):9-11.

Bunster L, Fokkema NJ, Schippers B. 1989. Effect of surface-active *Pseudomonas* spp. on leaf wettability. *Appl. Environ. Microbiol.* 55(6):1340-1345.

Burd M. 2007. Adaptive function of drip tips: a test of the epiphyll hypothesis in *Psychotria marginata* and *Faramea occidentalis* (Rubiaceae). *Journal of Tropical Ecology*. 23(4):449-455.

Burgess SSO, Dawson TE. 2004 The contribution of fog to the water relations of *Sequoia sempervirens* (D. Don): foliar uptake and prevention of dehydration. *Plant, Cell & Environment*. 27(8):1023-1034

Carthey AJR, Blumstein DT, Gallagher RV, Tetu SG, Gillings MR. 2020. Conserving the holobiont. *Funct Ecol.* 34(4):764–776. doi:10.1111/1365-2435.13504. <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2435.13504>.

Chabot BF, Hicks DJ. 1982. The ecology of leaf life spans. *Annual review of ecology and systematics.* 13(1):229-259.

Yang CH, Crowley DE, Borneman J, Keen NT. 2001. Microbial phyllosphere populations are more complex than previously realized. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 98(7):3889–3894. doi:10.1073/pnas.051633898. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.051633898>.

Christian N, Herre EA, Mejia LC, Clay K. 2017. Exposure to the leaf litter microbiome of healthy adults protects seedlings from pathogen damage. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences.* 284(1858):20170641.

Coley PD, Kursar TA, Machado JL. 1993. Colonization of tropical rain forest leaves by epiphylls: effects of site and host plant leaf lifetime. *Ecology.* 74(2):619-623.

Coley, P. D. & Barone, J. A. 1996. Herbivory and plant defenses in tropical forests. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 27:305-335, doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.27.1.305

Coley, P.D., Bryant, J.P. & Chapin, F.S. 1985. Resource Availability and Plant Antiherbivore Defense. *Science*, 230:895-899.

Coq S, JM Souquet, E Meudec, V Cheynier, S Hättenschwiler. 2010. Interspecific variation in leaf litter tannins drives decomposition in a tropical rain forest of French Guiana. *Ecology.* 91:2080–2091.

Coxson D, Mc Intyre D, Vogel J. 1992. Pulse release of sugars and polyols from canopy bryophytes in tropical montane rain forest (Guadeloupe, French West Indies). *Biotropica*. 24: 121–133.

Cusack DF, Silver W, McDowell WH. 2009. Biological nitrogen fixation in two tropical forests: ecosystem-level patterns and effects of nitrogen fertilization. *Ecosystems*. 12(8):1299-1315.

Eller CB, Lima AL, Oliveira RS. 2013. Foliar uptake of fog water and transport belowground alleviates drought effects in the cloud forest tree species, *Drimys brasiliensis* (Winteraceae). *New Phytologist*. 199(1):151-162.

Estrada C, Wcislo WT, Van Bael SA. 2013. Symbiotic fungi alter plant chemistry that discourages leaf-cutting ants. *New Phytologist*, 198(1):241-251.

Eze JMO, Berrie GK. 1977. Further investigations into the physiological relationship between an epiphyllous liverwort and its host leaves. *Annals of Botany*. 41(2):351-358.

Fernández V, Bahamonde HA, Javier Peguero-Pina J, Gil-Pelegrín E, Sancho-Knapik D et al. 2017. Physico-chemical properties of plant cuticles and their functional and ecological significance. *Journal of Experimental Botany*. 68(19):5293-5306.

Freiberg E. 1998. Microclimatic parameters influencing nitrogen fixation in the phyllosphere in a Costa Rican premontane rain forest. *Oecologia*. 117(1-2):9-18.

Freiberg, E. 1999. Influence of microclimate on the occurrence of cyanobacteria in the phyllosphere in a premontane rain forest of Costa Rica. *Plant Biology*. 1(2):244-252.

Friesen M, Porter SS, Stark SC, von Wettberg EJ, Sachs JL, Martinez- Romero E. 2011. Microbially Mediated Plant Functional Traits. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 42:23–46. DOI: 10.1146/annurev-ecolsys-102710-145039

Fürnkranz M, Wanek W, Richter A, Abell G, Rasche F, Sessitsch A. 2008. Nitrogen fixation by phyllosphere bacteria associated with higher plants and their colonizing epiphytes of a tropical lowland rainforest of Costa Rica. *The ISME journal*. 2(5):561-570.

Gargallo-Garriga A, Sardans J, Pérez-Trujillo M, Guenther A, Llusà J, Rico L., ... & Peñuelas J. 2016. Shifts in plant foliar and floral metabolomes in response to the suppression of the associated microbiota. *BMC plant biology*. 16(1):78.

Gonçalves AZ, Hoffmann FL, Mercier H, Mazzafera P, Romero GQ. 2014. Phyllosphere bacteria improve animal contribution to plant nutrition. *Biotropica*. 46(2):170-174.

Griffin EA, Traw MB, Morin PJ, Pruitt JN, Wright SJ, Carson WP. 2016. Foliar bacteria and soil fertility mediate seedling performance: a new and cryptic dimension of niche differentiation. *Ecology*. 97(11):2998-3008.

Griffin EA, Wright SJ, Morin PJ, Carson WP. 2017. Pervasive interactions between foliar microbes and soil nutrients mediate leaf production and herbivore damage in a tropical forest. *New Phytologist*. 216(1):99-112.

Griffin-Nolan RJ, Bushey JA, Carroll CJ, Challis A, Chieppa J, Garbowski, M et al. 2018. Trait selection and community weighting are key to understanding ecosystem responses to changing precipitation regimes. *Functional Ecology*. 32(7):1746-1756.

He X, He KS, Hyvönen J. 2016. Will bryophytes survive in a warming world?. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 19:49-60.

Hirano SS, Upper CD. 2000. Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae*-a pathogen, ice nucleus, and epiphyte. *Microbiol Mol Biol Rev*. 64(3):624–653. doi:10.1128/MMBR.64.3.624-653.2000. <http://dx.doi.org/10.1128/MMBR.64.3.624-653.2000>.

Honegger R. 2006. Water relations in lichens. In: Gadd GM, Watkinson SC, Dyer P, editors. *Fungi in the environment*. Cambridge. Cambridge University Press. p. 185-200.

Humphrey PT, Nguyen TT, Villalobos MM, Whiteman NK. 2014. Diversity and abundance of phyllosphere bacteria are linked to insect herbivory. *Molecular Ecology*. 23(6):1497-1515.

Ivey CT, DeSilva N. 2001. A test of the function of drip tips. *Biotropica*. 33(1):188-191.

Jin Y, Qian H. 2022. V.PhyloMaker2: An updated and enlarged R package that can generate very large phylogenies for vascular plants. *Plant Divers*. 44(4):335–339. doi:10.1016/j.pld.2022.05.005. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pld.2022.05.005>.

Jones JD, Dangl JL. 2006. The plant immune system. *Nature*. 444(7117):323-329.

Jones K. 1970. Nitrogen fixation in the phyllosphere of the Douglas fir, *Pseudotsuga douglasii*. *Annals of Botany*. 34(1):239-244.

Kattge J, Diaz S, Lavorel S, Prentice IC, Leadley P, Bönisch G et al. 2011. TRY—a global database of plant traits. *Global change biology*. 17(9):2905-2935.

Kembel SW, O'Connor TK, Arnold HK, Hubbell SP, Wright SJ, Green JL. 2014. Relationships between phyllosphere bacterial communities and plant functional traits in a neotropical forest. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 111(38):13715-13720.

Kerstiens G. 1996. Cuticular water permeability and its physiological significance. *Journal of Experimental Botany*. 47(12):1813-1832.

Kerstiens G. 1996. Cuticular water permeability and its physiological significance. *Journal of Experimental Botany*. 47(12):1813-1832.

Knoll D, Schreiber L. 1998. Influence of epiphytic micro-organisms on leaf wettability: wetting of the upper leaf surface of *Juglans regia* and of model surfaces in relation to colonization by micro-organisms. *The New Phytologist*. 140(2):271-282.

Knoll D, Schreiber L. 2000. Plant–microbe interactions: wetting of ivy (*Hedera helix* L.) leaf surfaces in relation to colonization by epiphytic microorganisms. *Microbial ecology*. 40(1): 33-42.

Laforest-Lapointe I, Paquette A, Messier C, Kembel SW. 2017. Leaf bacterial diversity mediates plant diversity and ecosystem function relationships. *Nature*. 546:145–147. doi:10.1038/nature22399

Lakatos M, Rascher U, Büdel B. 2006. Functional characteristics of corticolous lichens in the understory of a tropical lowland rain forest. *New phytologist*. 172(4):679-695.

Last Ft, Price D. 1969. Yeasts associated with living plants and their environs. The yeasts. 1:183-218.

Last Ft. 1955. Seasonal incidence of *Sporobolomyces* on cereal leaves. Transactions of the British Mycological Society. 38(3):221-239.

Lavorel S, McIntyre S, Landsberg J, Forbes TDA. 1997. Plant functional classifications: from general groups to specific groups based on response to disturbance. Trends in Ecology & Evolution. 12(12):474-478.

Li Y, Wu X, Chen T, Wang W, Liu G, Zhang W, ... & Zhang G. 2018. Plant phenotypic traits eventually shape its microbiota: a common garden test. Frontiers in microbiology. 9: 2479.

Lindow SE, Brandl MT. 2003. Microbiology of the phyllosphere. Appl. Environ. Microbiol. 69(4):1875-1883.

Lücking R, Bernecker-Lücking A. 2005. Drip-tips do not impair the development of epiphyllous rain-forest lichen communities. Journal of Tropical Ecology. 21(2):171-177.

Lücking R, Matzer M. 2001. High foliicolous lichen alpha-diversity on individual leaves in Costa Rica and Amazonian Ecuador. Biodiversity & Conservation. 10(12):2139-2152.

Lücking, A. 1997. Diversity and distribution of epiphyllous bryophytes in a tropical rainforest in Costa Rica. Abstracta Botanica. 79-87.

Massart S, Martinez-Medina M, Jijakli MH. 2015. Biological control in the microbiome era: challenges and opportunities. *Biological control*. 89:98-108.

Mežaka A, Salazar Allen N, Mendieta-Leiva G, Bader MY. 2022. Life on a leaf: The development of spatial structure in epiphyll communities. *J Ecol*. 110(3):619–630. doi:10.1111/1365-2745.13824. <http://dx.doi.org/10.1111/1365-2745.13824>.

Monge-Nájera J, Blanco MA. 1995. The influence of leaf characteristics on epiphyll cover: a test of hypotheses with artificial leaves. *Tropical Bryology*. 11, 5-9.

Moreira JCF. 2019. Microbiomes of the Amazon forest: bacterial diversity and community structure in the phyllosphere, litter and soil (Tese Doutorado, Universidade de São Paulo).

Morris CE, Kinkel LL, Lindow SE, Hecht-Poinar EI, Elliott VJ. 2002. Fifty years of phyllosphere microbiology: significant contributions to research in related fields. 365–375. *Phyllosphere microbiology*. APS Publishing, St. Paul, MN.

Morris, C. E. (2001). *Phyllosphere*. e LS.

Mueller UG, Wolf-Mueller B. 1991. Epiphyll deterrence to the leafcutter ant *Atta cephalotes*. *Oecologia*. 86(1):36-39.

Oliveira RS, Dawson TE, Burgess Sso.2005. Evidence for direct water absorption by the shoot of the desiccation-tolerant plant *Vellozia flavicans* in the savannas of central Brazil. *Journal of Tropical Ecology*.21(5):585-588.

Partida-Martinez, L. P. P., & Heil, M. (2011). The microbe-free plant: fact or artifact?. *Frontiers in plant science*, 2, 100.

Perez-Harguindeguy N, Diaz S, Garnier E, Lavorel S, Poorter H, Jaureguiberry P et al. 2016. Corrigendum to: new handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of botany*. 64(8):715-716.

Perry DA, R Oren, SC Hart. 2008. *Forest Ecosystems*. The Johns Hopkins University Press, London

Pinokiyo A, Singh KP, Singh JS. 2006. Leaf-colonizing lichens: their diversity, ecology and future prospects. *Current science*. 90(4):509-518.

Proctor MCF. 1990. The physiological basis of bryophyte production. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 104(1-3):61-77.

Pypker TG, Unsworth MH, Bond BJ. 2006. The role of epiphytes in rainfall interception by forests in the Pacific Northwest. I. Laboratory measurements of water storage. *Canadian Journal of Forest Research*. 36(4):809–818.

Reich PB, Ellsworth DS., Walters MB., Vose JM, Gresham C, Volin JC, Bowman WD. 1999. Generality of leaf trait relationships: a test across six biomes. *Ecology*. 80(6):1955-1969.

Rosado, B. H., Almeida, L. C., Alves, L. F., Lambais, M. R., & Oliveira, R. S. 2018. The importance of phyllosphere on plant functional ecology: a phyllo trait manifesto. *New Phytologist*. 219(4):1145-1149.

- Roskoski JP. 1981. Epiphyll dynamics of a tropical understory. *Oikos*. 252-256.
- Ruinen J. 1956. Occurrence of the *Beijerinckia* species in the phyllosphere. *Nature*. 177(4501):220–221.
- Ruinen, J. 1961. The phyllosphere: I. An ecologically neglected milieu. *Plant and soil*. 81-109.
- Sand-Jensen KAJ. 1977. Effect of epiphytes on eelgrass photosynthesis. *Aquatic Botany*. 3:55-63.
- Santesson R. 1952. Foliicolous lichens a revision of the taxonomy of the obligately foliicolous lichenised fungi. *Symb. Bot. Ups.*12:1–590.
- Santiago LS. 2007. Extending the leaf economics spectrum to decomposition: evidence from a tropical forest. *Ecology*. 88:1126–1131.
- Scheidel U. & Bruelheide H. 2001. Altitudinal differences in herbivory on montane Compositae species. *Oecologia*, 129: 75–86, doi.org/10.1007/s004420100695.
- Schreel JDM, Steppe K. 2020. Foliar water uptake in trees: Negligible or necessary? *Trends Plant Sci.* 25(6):590–603. doi:10.1016/j.tplants.2020.01.003. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2020.01.003>.
- Schreiber L, Krimm U, Knoll D, Sayed M, Auling G, Kroppenstedt RM. 2005. Plant–microbe interactions: identification of epiphytic bacteria and their ability to alter leaf surface permeability. *New Phytologist*. 166(2):589-594.

Vacher C, Hampe A, Porté AJ, Sauer U, Compant S, Morris CE. 2016. The phyllosphere: microbial jungle at the plant–climate interface. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*. 47:1-24.

van de Schoot R, de Bruin J, Schram R, Zahedi P, de Boer J, Weijdemans F, Kramer B, Huijts M, Hoogerwerf M, Ferdinands G, et al. 2021. An open source machine learning framework for efficient and transparent systematic reviews. *Nat Mach Intell*. 3(2):125–133.

Violle, C., Navas, M.-L., Vile, D., Kazakou, E., Fortunel, C., Hummel, I., & Garnier, E. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos*. 116(5):882–892.

Vitousek PM, Cassman KEN, Cleveland C, Crews T, Field CB, Grimm NB. et al. 2002. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. In *The nitrogen cycle at regional to global scales* (pp. 1-45). Springer, Dordrecht.

Wanek W, Pörtl K. 2005. Phyllosphere nitrogen relations: reciprocal transfer of nitrogen between epiphyllous liverworts and host plants in the understorey of a lowland tropical wet forest in Costa Rica. *New phytologist*. 166(2):577-588.

Wanek W, Pörtl K. 2005. Phyllosphere nitrogen relations: reciprocal transfer of nitrogen between epiphyllous liverworts and host plants in the understorey of a lowland tropical wet forest in Costa Rica. *New phytologist*. 166(2):577-588.

Ward, H. M. 1884. VII. On the Structure, Development, and Life-history of a Tropical Epiphyllous Lichen (*Strigula complanata*, Fée, fide, Rev. JM Crombie). *Transactions of the Linnean Society of London*. 2nd Series. Botany. 2(6):87-119.

Westoby M, Falster DS, Moles AT, Vesk PA, Wright IJ. 2002. Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. *Annual review of ecology and systematics*. 33(1):125-159.

Witkowski ETF, Lamont BB. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia*, 88(4):486-493.

Wright IJ, Ackerly DD, Bongers F, Harms KE, Ibarra-Manriquez G, Martinez-Ramos M. et al. 2007. Relationships among ecologically important dimensions of plant trait variation in seven neotropical forests. *Annals of Botany*, 99(5):1003-1015.

Wright IJ, Reich PB, Westoby M, Ackerly DD, Baruch Z, Bongers F et al. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*. 428(6985):821-827.

Wright IJ; Westoby M; Reich PB. 2002. Convergence towards higher leaf mass per area in dry and nutrient-poor habitats has different consequences for leaf life span. *Journal of ecology*. 90(3):534-543.

Zhou L, Liu F, Yang W, Liu H, Shao H, Wang Z, An S. 2014. Differential effects of lichens versus liverworts epiphylls on host leaf traits in the tropical Montane rainforest, Hainan Island, China. *The Scientific World Journal*. 2014.

Zhu Y-G, Xiong C, Wei Z, Chen Q-L, Ma B, Zhou S-Y-D, Tan J, Zhang L-M, Cui H-L, Duan G-L. 2022. Impacts of global change on the phyllosphere microbiome. *New Phytol.* 234(6):1977–1986. doi:10.1111/nph.17928.
<http://dx.doi.org/10.1111/nph.17928>.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S1. Artigos incluídos na revisão sistemática com informações sobre autoria, título do artigo, área do estudo e categoria na qual a variável resposta foi classificada. Alguns estudos avaliaram mais de uma variável resposta e foram incluídos em mais de uma categoria. (continua)

Referência	Título do artigo	Área do estudo	Categoria
Berrie and Eze 1975	Relationship between an epiphyllous liverwort and host leaves	Serra Leoa	Hidráulico
Eze and Berrie 1977	Further investigations into the physiological relationship between an Epiphyllous Liverwort and its host leaves	Serra Leoa	Fotossintético
Bentley and Carpenter 1984	Direct transfer of newly-fixed nitrogen from free-living epiphyllous microorganisms to their host plant	Costa Rica	Bioquímico
Müeller and Wol-Müeller 1991	Epiphyll deterrence to the leafcutter ant <i>Atta cephalotes</i>	Costa Rica	Morfológico foliar
Coley et al. 1993	Colonization of tropical rain-forest leaves by epiphylls - effects of site and host plant leaf lifetime	Panamá	Fotossintético
Freiberg 1998	Microclimatic parameters influencing nitrogen fixation in the phyllosphere in a Costa Rican premontane rainforest	Costa Rica	Ecossistêmico
Antony et al. 2002	Shade acclimation of rainforest leaves to colonization by lichens	Austrália	Fotossintético
Wanek and Portl 2005	Phyllosphere nitrogen relations: reciprocal transfer of nitrogen between epiphyllous liverworts and host plants in the understory of a lowland tropical wet forest in Costa Rica	Costa Rica	Bioquímico
Schreiber et al. 2005	Plant–microbe interactions: identification of epiphytic bacteria and their ability to alter leaf surface permeability	Alemanha	Hidráulico

Fonte: A autora, 2022.

Tabela 1. Artigos incluídos na revisão sistemática com informações sobre autoria, título do artigo, área do estudo e categoria na qual a variável resposta foi classificada. Alguns estudos avaliaram mais de uma variável resposta e foram incluídos em mais de uma categoria. (continuação)

Referência	Título do artigo	Área do estudo	Categoria
Arnold et al. 2007	Fungal endophytes nearly double minimum leaf conductance in seedlings of a neotropical tree species	Panamá	Hidráulico
Fürnkranz et al. 2008	Nitrogen fixation by phyllosphere bacteria associated with higher plants and their colonizing epiphytes of a tropical lowland rainforest of Costa Rica	Costa Rica	Bioquímico
Afkhami and Rodgers 2009	Endophyte-mediated resistance to herbivores depends on herbivore identity in the wild grass <i>festuca subverticillata</i>	Estados Unidos	Morfológico foliar
Bittleston et al. 2010*	Endophytic fungi reduce leaf-cutting ant damage to seedlings	Panamá	Morfológico foliar
Zhou et al. 2014	Differential Effects of Lichens versus Liverworts Epiphylls on Host Leaf Traits in the Tropical Montane Rainforest, Hainan Island, China	China	Morfológico foliar
Gonçalves et al. 2014	Phyllosphere bacteria improve animal contribution to plant nutrition	Brasil	Fotossintético
Humphrey et al. 2014*	Diversity and abundance of phyllosphere bacteria are linked to insect herbivory.	Estados Unidos	Bioquímico
Griffin et al. 2016	Foliar bacteria and soil fertility mediate seedling performance: a new and cryptic dimension of niche differentiation	Panamá	Planta inteira
Christian et al. 2017	Exposure to the leaf litter microbiome of healthy adults protects seedlings from pathogen damage	Panamá	Planta inteira
Griffin et al. 2017	Pervasive interactions between foliar microbes and soil nutrients mediate leaf production and herbivore damage in a tropical forest	Panamá	Morfológico foliar
			Fenológico

Fonte: A autora, 2022

Tabela 1. Artigos incluídos na revisão sistemática com informações sobre autoria, título do artigo, área do estudo e categoria na qual a variável resposta foi classificada. Alguns estudos avaliaram mais de uma variável resposta e foram incluídos em mais de uma categoria. (conclusão)

Referência	Título do artigo	Área do estudo	Categoria
Bell-Dereske et al. 2017	Plant-fungal symbiosis affects litter decomposition during primary succession	Estados Unidos	Subterrâneo
Laforest-Lapointe et al. 2017	Leaf bacterial diversity mediates plant diversity and ecosystem function relationships	Canadá	Planta inteira Bioquímico
Christian et al. 2019	Foliar endophytic fungi alter patterns of nitrogen uptake and distribution in <i>Theobroma cacao</i>	Panamá	Planta inteira Subterrâneo Morfológico foliar
Giauque et al. 2019	Endophyte traits relevant to stress tolerance, resource use and habitat of origin predict effects on host plants	Estados Unidos	Planta inteira
Christian et al. 2020	Host affinity of endophytic fungi and the potential for reciprocal interactions involving host secondary chemistry	Panamá	Bioquímico

Fonte: A autora, 2022.

2 EFEITO DE EPÍFILAS SOBRE CRESCIMENTO VEGETAL E FIXAÇÃO BIOLÓGICA DE NITROGÊNIO EM PLANTAS DA AMAZÔNIA

Resumo

A identidade da planta hospedeira e as características morfológicas das folhas afetam a incidência e composição das comunidades na filosfera. Em geral, condições tropicais úmidas favorecem o estabelecimento das epífilas nas superfícies foliares. As folhas com características morfológicas que proporcionam uma drenagem de água podem ser menos suscetíveis a incidência de epífilas. No entanto, não há um reconhecimento de como as características foliares das plantas hospedeiras modulam a incidência de epífilas e consequentemente seus efeitos positivos ou negativos para o hospedeiro. Enquanto um dos potenciais efeitos positivos é a fixação biológica de nitrogênio, mediada por microorganismos associados a briófitas na filosfera, um efeito negativo é a potencial redução fotossintética em função da interceptação da energia luminosa. Investigamos se as características de espécies de plantas Amazônicas afetam a cobertura da filosfera e a fixação biológica de nitrogênio. Utilizamos o conjunto de dados composto por características das plantas e parâmetros abióticos, para avaliar o papel sobre a cobertura por epífilas nas superfícies foliares utilizando árvores de regressão reforçada (BRT). Para as taxas de fixação assimbiótica de nitrogênio utilizamos o conjunto de dados composto por características das plantas, índice de cobertura por epífilas e parâmetros abióticos utilizando BRT. Inesperadamente, as características de molhabilidade foliar não foram variáveis influentes para a cobertura da filosfera. As respostas parciais do modelo indicaram que a cobertura da filosfera é maior quando as plantas possuem menos de sete metros de altura e massa de folha por unidade de área de até 120 g.m^{-2} . Já para a fixação biológica de nitrogênio, as variáveis mais influentes foram a precipitação e a área foliar. Houve um decréscimo acentuado nas taxas para precipitação acima de 110 mm e a maior taxa foi alcançada em valores de área foliar com cerca de 35 cm^2 . Em geral, nossos resultados sugerem que características foliares ligadas ao escoamento de água podem não influenciar o estabelecimento de organismos na filosfera e sugerimos que as características microclimáticas podem ter a maior influência no estabelecimento de comunidades epifílicas. Compreender os fatores que determinam a cobertura da filosfera pode fornecer informações sobre os efeitos da filosfera na planta, na comunidade e nos processos ecossistêmicos.

Palavras-chave: Filosfera. Epífila. Fixação Biológica de Nitrogênio. Floresta Amazônica.

2.1 Introdução

Em plantas de florestas tropicais é comum a ocorrência de organismos epífilos, incluindo briófitas, líquens, fungos, algas e bactérias na filosfera (Last 1955; Ruinen 1961, Coley et al. 1993). Fatores como a identidade do hospedeiro, propriedades químicas das folhas, radiação ultravioleta e umidade do ar afetam a colonização, ocorrência, abundância e diversidade dos organismos que compõem a filosfera (Coley et al. 1993; Zartmann 2003; Müller and Riederer 2005; Sonnleitner et al. 2009; Lambais et al. 2014; Vacher et al. 2016). Como as epífilas são dependentes do ambiente criado por plantas vasculares (Zhu e So 2001), as características da folha do hospedeiro e as condições microclimáticas são consideradas os principais fatores determinantes para o estabelecimento de epífilas (Coley et al. 1993; Sonnleitner et al. 2009).

Em florestas tropicais, as chuvas frequentes proporcionam o acúmulo de água sobre as folhas e favorecem um micro-habitat mais úmido na filosfera. Portanto, um ambiente potencialmente ideal para o estabelecimento e desenvolvimento das comunidades de epífilas (Coley and Kursar 1996; Ivey and De Silva 2001; Pinokiyo et al. 2006; Holder 2007; Burd 2007). Algumas características morfológicas foliares são indicadas como capazes de reduzir ou aumentar a retenção de água na superfície foliar. Neste sentido, características da planta hospedeira determinam condições favoráveis ou não ao estabelecimento da comunidade filosférica (Richards 1996; Coley and Kursar 1996; Ivey and De Silva 2001; Burd 2007). Por exemplo, no sub-bosque das florestas tropicais úmidas é comum que as folhas tenham ápices foliares prolongados (i.e. drip-tips). Este tipo de morfologia foliar pode reduzir a retenção de água (Malhado et al. 2012), conseqüentemente, o crescimento das epífilas na filosfera (Ivey and De Silva 2001; Burd 2007).

A relação entre características foliares de molhabilidade e a colonização por epífilas foi testada algumas vezes. No entanto, raramente com mais de uma espécie de planta hospedeira ou com folhas naturais (Monge-Nájera and Blanco 1995; Ivey and De Silva 2001; Burd 2007). Apesar da hipótese de que drip-tips promovem a drenagem da água após a chuva e por conseqüência, impedem o crescimento de fungos, líquens, briófitas e algas nas superfícies das folhas, até o momento, nenhum estudo detectou um efeito negativo das drip-tips na cobertura da superfície foliar (Monge-Nájera and Blanco 1995; Ivey and De Silva 2001; Lucking and Bernecker-Lucking 2005; Burd 2007). A repelência hídrica foliar (RHF) é outra característica descrita na literatura como capaz de reduzir a quantidade de água

interceptada nas folhas (Rosado and Holder 2013). Em específico, a RHF consiste na capacidade da folha de repelir a água proveniente de fontes externas, como chuva e neblina. A RHF é resultante de diversas estruturas foliares como a cutícula, cera, rugosidade da superfície foliar, cristais e dobras cuticulares (Neinhuis and Barthlott 1997). Entretanto, a relação entre RHF e cobertura por epífilas ainda não foi testada.

Dentre as possíveis consequências da presença de epífilas nas superfícies foliares para a planta hospedeira, o efeito na taxa fotossintética é amplamente citado na literatura. Dois estudos experimentais investigaram a relação entre a cobertura da superfície foliar por epífilas e a taxa fotossintética. O trabalho clássico de Coley et al. (1993), estima uma redução de 20% da taxa fotossintética em folhas cobertas por epífilas. Entretanto, as folhas cobertas por líquens respondem a este sombreamento foliar com aumento no conteúdo de clorofila nos tecidos afetados (Anthony et al. 2002), o que pode aumentar a fotossíntese. Neste sentido, ainda não temos clareza se a possível redução fotossintética ocasiona uma redução no incremento de biomassa vegetal acima do solo. Também, é importante considerar de que maneira outros efeitos, como a fixação biológica de nitrogênio (FBN), desempenhada pelas epífilas pode contrabalancear a possível redução fotossintética (Freiberg 1994; Wanek and Portl 2005).

Mudanças em fatores ambientais como, luz solar direta e redução da umidade do ar, podem afetar negativamente as epífilas que são sensíveis às mudanças climáticas (Zartman 2003; Alvarenga et al. 2009). Impactos negativos na estrutura do dossel das plantas hospedeiras, como abertura de clareiras e aumento da luz solar direta no sub-bosque, podem resultar em empobrecimento ou perda das comunidades de epífilas. Briófitas epífilas ocorrentes na Amazônia Central apresentam menor sobrevivência e redução no crescimento durante a estação seca (Zartman et al. 2015). Sugere-se que muitos micro-organismos estão associados a briófitas e outros organismos residentes da filosfera (Fürnkranz et al. 2008) e, portanto, os eventos de seca podem comprometer a estrutura das comunidades da filosfera. Além disso, durante o El-Niño de 2015 – 2016, a região amazônica passou por um período de seca extrema e registrou uma elevada mortalidade de plantas (Berenguer et al. 2021), sendo também registrada uma diminuição da alfa diversidade das comunidades de bactérias da filosfera (Fornazier 2018), com prováveis consequências negativas para a estrutura populacional de espécies epífilas da região amazônica e possíveis mudanças no desempenho de funções ecológicas, como a fixação biológica de nitrogênio.

De modo geral, para fins de explicação da susceptibilidade das plantas à cobertura da filosfera, os estudos conduzidos examinaram as relações existentes entre duas variáveis. Ou seja, uma característica do hospedeiro como variável preditora da cobertura epifítica. Ao considerar a combinação de diferentes características funcionais e suas interações, podemos aumentar a acurácia na descrição de diferentes mecanismos ecológicos (Pistón et al. 2019), como a relação entre a planta hospedeira e as comunidades de organismos que se estabelecem em suas superfícies foliares. Aqui, avaliamos o papel das características funcionais das plantas de sub-bosque e sub-dossel e parâmetros abióticos durante o El-Niño, na cobertura da superfície foliar por organismos epifíticos (ICE) e nas taxas de fixação assimbiótica de nitrogênio (FBN). Para complementar nossa avaliação, exploramos o efeito da interação de características para o ICE e a FBN. Especificamente, testamos a hipótese de que as características funcionais que aumentam o escoamento de água reduzem a ocorrência de epífitas em superfícies foliares. Utilizaremos um conjunto de características de diferentes espécies para identificar combinações que desempenham um papel na incidência da cobertura por epífitas. Além disso, esperamos que a maior incidência de epífitas resulte em maiores taxas de fixação biológica de nitrogênio. Em particular, esperamos que as espécies com maior cobertura da superfície foliar apresentem uma maior taxa de fixação biológica de nitrogênio, o que pode se refletir em uma relação positiva entre a cobertura de epífitas e o incremento de biomassa das plantas.

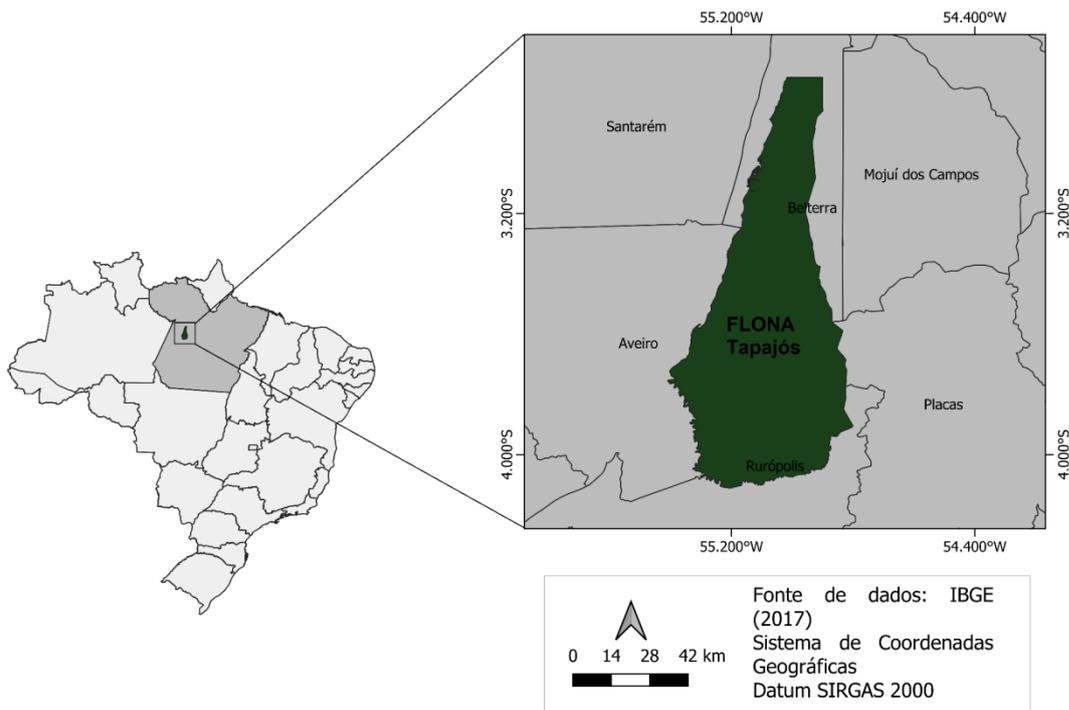
2.2 Materiais e métodos

2.2.1 Área de estudo

O estudo foi conduzido na Floresta Nacional do Tapajós — Flona do Tapajós, localizada próximo à cidade de Santarém, estado do Pará, Brasil (54° 58'W e 2° 51' S, altitude de 350 – 450 m) (Figura 1). A média anual de temperatura é de 28 °C (Brando et al. 2008) e a umidade média é de 85% (Rice et al. 2004). A precipitação varia de 1700 a 3000 mm com média anual de 2037 mm (1998 – 2013). Durante a estação seca (agosto a dezembro) a precipitação média mensal é de 100 mm (Brando et al. 2008; Restrepo-Coupe et al. 2017). Nos períodos de seca associados ao El-Niño (ENSO) de 2015 – 2016, a precipitação média

mensal foi de apenas 64 mm (Restrepo-Coupe et al. 2016). Conduzimos três amostragens durante o período do ENSO em 2015 (julho) e 2016 (fevereiro e julho), um dos eventos de seca, mais extremos registrados na região Amazônica e os anos mais secos para a região da Flona do Tapajós desde 2001 (Jiménez-Muñoz et al. 2016; Leitold et al. 2018).

Figura 1 - Localização da área de estudo.



Legenda: A área de estudo está inserida na Floresta Nacional do Tapajós (FLONA Tapajós), no estado do Pará. A área em verde delimita a unidade FLONA Tapajós.

Fonte: A autora, 2022.

2.2.2 Seleção das espécies

Selecionamos nove espécies com base em suas abundâncias relativas na área estudada e posições do dossel ao longo do perfil vertical da floresta (sub-bosque e dossel). Coletamos de 6 a 14 indivíduos por espécie, totalizando 90 árvores amostradas para cada período. As árvores amostradas estavam localizadas dentro de uma parcela experimental permanente preservada de 20 hectares, distribuídas ao longo de um transecto de 1.000 X 10 m localizado a leste da torre Eddy Covariance (Pyle et al. 2008; Longo 2013) na Flona do Tapajós. Amostramos indivíduos das espécies: *Amphirrhox longifolia* (n = 9-10), *Aparisthmium cordatum* (n = 9-10), *Chamaecrista scleroxylon* (n = 8-10), *Coussarea paniculata* (n = 9-10), *Erismia uncinatum* (n = 6), *Manilkara elata* (n = 12-14), *Miconia lepidota* (n = 9), *Protium apiculatum* (n = 9-10) e *Rinorea pubiflora* (n = 10) (Tabela 1).

Tabela 1 – Características das espécies de árvores do sub-dossel e sub-bosque selecionadas para este estudo na Floresta Nacional do Tapajós, estado do Pará, Brasil.

Família	Espécie	Densidade da madeira (g cm ⁻³) ^{1•}	Altura (m)	Posição no dossel	Nível sucessional ²
Violaceae	<i>Amphirrhox longifolia</i>	0.71	3 –4	Sub-bosque	Sucessão tardia
Violaceae	<i>Rinorea pubiflora</i>	0.75	2 –3	Sub-bosque	Sucessão tardia
Euphorbiaceae	<i>Aparisthmium cordatum</i>	0.39	1 –18	Sub-dossel	Sucessão inicial
Fabaceae	<i>Chamaecrista scleroxylon</i>	0.9 - 1.01	8 –25	Sub-dossel	Sucessão tardia
Vochysiaceae	<i>Erismia uncinatum</i>	0.41-0.75	8 –50	Sub-dossel	Sucessão inicial
Sapotaceae	<i>Manilkara elata</i>	0.79-1.04	3 –55	Sub-dossel	Sucessão tardia

Melastomataceae	<i>Miconia lepidota</i>	0.75	10–16	Sub-dossel	Sucessão tardia
Rubiaceae	<i>Coussarea paniculata</i>	0.65	9–48	Sub-dossel	Sucessão média
Burseraceae	<i>Protium apiculatum</i>	0.53 - 0.60	7–18	Sub-dossel	Sucessão média

Legenda: ¹Densidade da madeira: The global wood density inventory:
<http://datadryad.org/handle/10255/dryad.235>.

² Caracterização do nível sucessional com base na densidade da madeira de acordo com Chave et al. (2006)

2.2.3 Características da planta hospedeira

2.2.3.1 Medidas de características morfológicas

Galhos com aproximadamente de 1 metro de comprimento foram cortados em campo e acondicionados em sacos plásticos de 4 L e transportados para o laboratório onde foram hidratados por três horas. Após a hidratação, três folhas de cada indivíduo foram digitalizadas (100 dpi) e medimos as seguintes características: área foliar (AF; cm²) e drip-tips (DT; cm m⁻²), determinada pela razão entre o comprimento da ponta da folha (cm) a partir da deformação da forma elíptica e área foliar (cm²) utilizando o software de análise de imagem ImageJ, versão 1.37 (National Institutes of Health, USA, <http://www.rsd.info.nih.gov/ij/>). As folhas foram secas em estufa por pelo menos 48 horas a 70 °C e pesadas para calcular a massa de folha por unidade de área (MFA; g m⁻²) que é a razão da massa seca foliar pela área foliar (Witkowski and Lamont 1991). O conteúdo de água foliar (LWC) foi calculado a partir da fórmula: $LWC = 1 - (DM / FM)$, onde DM corresponde à massa seca (g) e FM corresponde à massa fresca (g).

2.2.3.2 Repelência hídrica foliar

A repelência da folha à água foi medida em três folhas de cada indivíduo a partir do ângulo de contato entre uma gota de água e a superfície da folha (Holder 2007; Rosado et al. 2010). A folha foi afixada com alfinetes em uma plataforma de isopor para aplanar a superfície com a face adaxial voltada para cima e, com uma micropipeta adicionamos uma gota de 10 µl de água destilada na superfície foliar. Em seguida, fotografamos o perfil da gotícula de água sobre a superfície foliar com câmera digital (Kodak PixPro AZ501). A partir da imagem, o ângulo de contato da superfície da folha foi mensurado no software ImageJ. As superfícies das folhas foram classificadas como super-hidrofílicas ($\theta < 40^\circ$), altamente molháveis ($40^\circ < \theta < 90^\circ$), molháveis ($90^\circ < \theta < 110^\circ$), não molháveis ($110^\circ < \theta < 130^\circ$),

altamente não molhável ($130^\circ < \theta < 150^\circ$) e super-hidrofóbicas ($\theta > 150^\circ$) (Aryal and Neuner 2010).

2.2.3.3 Índice de cobertura por epífilas

Avaliamos a cobertura das superfícies foliares por epífilas, segundo a classificação de herbivoria proposta por Dirzo and Dominguez (1995). Para a estimativa consideramos apenas organismos visíveis ao olho nu, já que folhas visualmente sem cobertura podem conter bactérias, hifas fúngicas e outros micro-organismos em sua superfície. Classificamos as folhas em seis classes conforme a porcentagem da área foliar coberta: (0) ausência de epífilas; (1) 1 a 6%; (2) 7 a 12%; (3) 13 a 25%; (4) 26 a 50%; (5) 51 a 100%. Após a classificação das folhas, calculamos a média das classes das três folhas amostradas para cada indivíduo e consideramos esta média como o índice de cobertura por epífilas.

2.2.3.4 Altura das plantas e crescimento diamétrico

Determinamos a altura das plantas (H; m) usando fitas métricas em plantas com menos de dois metros de altura. As alturas das plantas com mais de dois metros foram estimadas visualmente. A avaliação do incremento de biomassa lenhosa foi determinada a partir do crescimento radial, medido por bandas dendrométricas de aço nos indivíduos lenhosos nas parcelas. As medições do dendrômetro foram lidas em julho de 2015 e fevereiro de 2016 e obtidas a mediana, média dos valores máximos e valores máximos de incremento da biomassa em milímetros de cada indivíduo das espécies: *Chamaecrista scleroxylon*, *Coussarea paniculata*, *Erismia uncinatum*, *Manilkara elata*, *Miconia lepidota* e *Protium apiculatum*.

2.2.4 Fixação biológica de nitrogênio

Medimos a fixação de nitrogênio utilizando o ensaio de redução de acetileno (Hardy et al. 1968). Cada amostra com 10 g de folhagem por indivíduo foi selada em frasco de vidro transparente de 250 mL e, através de uma tampa equipada com um septo, injetamos acetileno suficiente para criar uma concentração de 10% de espaço livre. As amostras foram incubadas por 12 horas em condições florestais. Após a incubação, os headspaces das amostras foram misturados, injetados em frascos de vidro e devolvidos ao laboratório para análise. A massa seca da amostra e o teor de umidade foram determinados gravimetricamente após secagem em estufa por 48 horas a 70 °C. Em laboratório, medimos as concentrações de etileno usando um cromatógrafo a gás Shimadzu CG-2010 equipado com um detector de ionização de chama e uma coluna HP PLOT / Q (colunas Agilent J&W GC). As condições de operação do GC foram: temperatura do injetor a 250 °C, temperatura da coluna a 50 °C e temperatura do FID a 250 °C, com N₂ como gás de arraste. As amostras de cada espécie foram incubadas na ausência de acetileno e o valor médio do etileno de base foi subtraído de todos os valores da amostra antes da análise. Taxas de redução de acetileno foram calculadas usando as nanomoles unitárias (10⁻⁹ mol) de acetileno reduzido por grama de massa seca da amostra por hora de incubação.

2.2.5 Dados abióticos

Os dados climáticos de precipitação média mensal, umidade relativa média mensal e média da temperatura do ar compensada, referentes aos três períodos de coleta (julho de 2015, fevereiro e julho de 2016) foram obtidos a partir do Banco de Dados Meteorológicos do Instituto Nacional de Meteorologia (INMET) da estação localizada em Belterra, estado do Pará, Brasil.

2.2.6 Análise de dados

Utilizamos as seguintes variáveis como potenciais preditores do índice de cobertura por epífilas: área foliar (AF), massa de folha por unidade de área (MFA), repelência hídrica foliar (RHF), conteúdo de água foliar (CAF), altura (H), precipitação média (P), temperatura média compensada (T) e umidade relativa (UR). Como potenciais preditoras da fixação biológica de nitrogênio utilizamos as variáveis: índice de cobertura por epífilas (ICE), área foliar (AF), massa de folha por unidade de área (MFA), repelência hídrica foliar (RHF), conteúdo de água foliar (CAF), altura (H), precipitação média (P), temperatura média compensada (T) e umidade relativa (UR).

A relação entre as variáveis respostas (ICE e FBN) e as variáveis preditoras foram examinadas usando árvores de regressão reforçada (BRT). Especificamente, usamos o procedimento descrito por Pistón et al. (2019) para o ajuste de modelos de BRT. Árvores de regressão reforçada são um método de *machine learning*, que usa um algoritmo para aprender a relação entre a variável resposta e seus preditores e foi recentemente introduzido no campo da ecologia (De'ath 2007; Elith et al. 2008; Pistón et al. 2019).

O processo de parametrização do modelo de BRT requer o ajuste e otimização conjunta dos parâmetros *learning rate* (lr), *bag fraction* (bf) e *tree complexity* (ntrees). O parâmetro *learning rate*, denominado parâmetro de redução, diminui a contribuição de cada árvore à medida que ela é adicionada ao modelo, ajudando a estimar uma verdadeira resposta no modelo final. *Bag fraction* especifica a proporção de dados selecionados para modelar em cada etapa, ou seja, um valor de bf = 0.5 significa que a cada iteração, 50% dos dados são retirados aleatoriamente, sem substituição do conjunto de dados completo. *Tree complexity* é o número de árvores adicionadas a cada ciclo de aumento do algoritmo necessárias para a previsão ideal do modelo (Elith et al. 2008; Pistón et al. 2019).

Usando o conjunto de oito variáveis preditoras para ICE e dez variáveis preditoras para FBN, testamos diferentes combinações de lr (0.005, 0.001 e 0.0005), bf (0.5 e 0.75) e ntrees (25 e 50) para o processo de parametrização do modelo BRT. O valor de *tree complexity* foi fixado em 10, dado que valores maiores não melhoram a capacidade preditiva do modelo (Pistón et al. 2019). Selecionamos a combinação de parâmetros (ntrees, bag fraction e learning rate) que atingiu o maior desvio explicado com o mínimo de 1.000 árvores obtidas (Elith et al. 2008; Pistón et al. 2019).

Seguindo o procedimento proposto por Pistón et al. (2019), após seleção dos parâmetros ótimos, quantificamos as melhorias na capacidade preditiva do modelo de BRT à medida que interações mais complexas foram adicionadas pela execução de modelos com complexidade crescente da árvore (Pistón et al. 2019). Produzimos modelos com valores de tc entre 1 (onde há apenas uma divisão na árvore, e nenhuma interação entre as características estudadas) e 15 (o que significa que as árvores possuem interações altamente complexas entre as características). Para fornecer intervalos de confiança de nossas previsões de modelo, simulamos 100 árvores para cada modelo e valor tc . Estimamos a capacidade preditiva via R^2 de cada um desses modelos, bem como a influência relativa de cada preditor em cada variável resposta. Posteriormente, os 100 valores de cada combinação da variável resposta e valor tc foram calculados para ter uma estimativa da média e variabilidade de R^2 e a influência relativa das variáveis (Pistón et al. 2019). Por fim, para selecionar um valor de tc ótimo, ajustamos análises de variância com o R^2 como variável resposta e valores de tc como variável explicativa e realizamos um teste de Tukey. Selecionamos o menor valor de tc que não diferiu significativamente dos demais valores, indicando que o desempenho do modelo atingiu um platô (para obter detalhes sobre o procedimento consulte Appendix S2, Pistón et al. 2019).

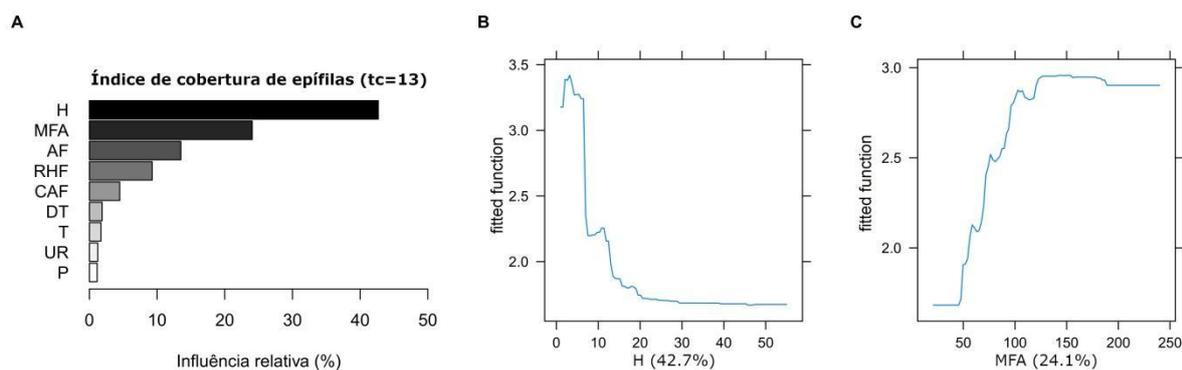
A influência relativa de cada variável foi calculada pela média de 100 simulações para um valor ótimo da complexidade das árvores, e cada variável é escalonada de forma que a soma resulte em 100, com números mais altos indicando maior influência na variável resposta (Soykan et al. 2014). Usamos os valores ótimos de tc e a função *gbm.interactions* para testar se as interações foram detectadas e modeladas e para relatar a intensidade da interação de cada par de preditores (Elith et al. 2008; Pistón et al. 2019). Para investigar como as interações entre as características preditoras afetam as variáveis respostas (ICE e FBN) traçamos as interações de maior magnitude em pares (função *gbm.perspec 2*).

Usamos regressão linear simples para testar as relações entre a fixação biológica de nitrogênio e o crescimento radial e entre o índice de cobertura de epífilas e o crescimento radial máximo em julho de 2015 e em fevereiro de 2016. Nossos dados não mostraram desvio significativo da normalidade dos resíduos ou homocedasticidade. Todas as análises estatísticas foram realizadas em R v4.0.4 usando os pacotes *dismo* (Hijmans et al. 2017), *multcomp* (Hothorn et al. 2017) e *gbm* (Ridgeway 2015).

2.3 Resultados

O modelo BRT explicou 46.7% da variação do índice de cobertura de epífilas. A altura das plantas (H) e a massa de folha por unidade de área (MFA) contribuíram com 42.68% e 24.05% da variação explicada, respectivamente (Figura 1; A). O índice de cobertura de epífilas (ICE) foi maior em plantas com menos de 7 m de altura. Houve uma estabilização do ICE para os valores de altura entre 7 e 14 m. Quando a altura foi superior a 14 m o ICE diminuiu acentuadamente até atingir um platô (Figura 1; B). O ICE manteve um aumento com o aumento da MFA e alcançou um platô quando MFA apresentou valores de cerca de 120 g.m⁻² (Figura 1; C). Esses resultados indicam que o índice de cobertura por epífilas foi maior quando as plantas eram menores (abaixo de 7 m) e com maior massa de folha por unidade de área.

Figura 1 – A influência relativa dos preditores foi calculada pela média de 100 simulações para um valor ótimo de complexidade de árvore (tc=13) usando BRT. A cobertura de epífilas na superfície foliar das plantas depende da interação entre altura, massa foliar por unidade de área, área foliar e repelência hídrica foliar (A). Funções ajustadas para as duas variáveis com maior influência no modelo. A função ajustada ao eixo y representa o efeito da variável preditora na variável resposta índice de cobertura de epífilas: (B) altura, (C) massa de folha por unidade de área.



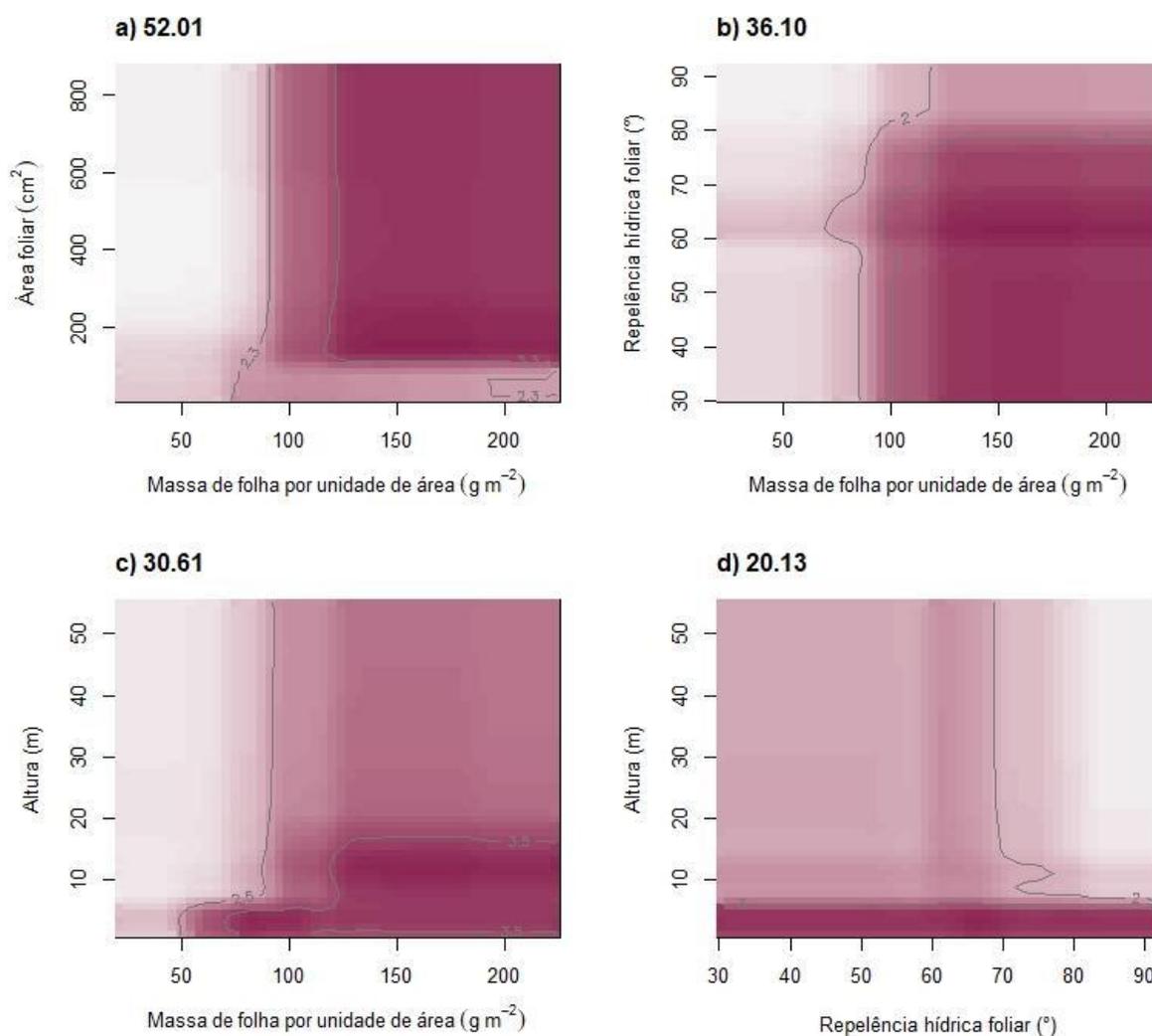
Legenda: As abreviações correspondem a: AF, área foliar; CAF, conteúdo de água foliar; DT, drip-tips; H, altura; MFA, massa de folha por unidade de área; P, precipitação; RHF, repelência hídrica foliar; T, temperatura; UR, umidade relativa.

Fonte: A autora, 2022.

Usamos o valor ótimo de $tc=13$ e a função *gbm.interactions* para detectar as interações de maior intensidade de cada par de preditores do modelo. As quatro interações em pares de maior magnitude que afetaram o índice de cobertura de epífilas foram: (i) área foliar (AF) e massa de folha por unidade de área (MFA); (ii) repelência hídrica foliar e massa de folha por unidade de área, (iii) altura e massa de folha por unidade de área; (iv) altura e repelência hídrica foliar (Figura 2). O gráfico da interação entre MFA e AF revela que valores mais altos de MFA combinados com áreas foliares maiores resultaram em um maior índice de cobertura de epífilas. No gráfico, pode-se observar que ainda que as plantas apresentem valores altos para MFA, quando combinados a áreas foliares menores o índice de cobertura de epífilas foi reduzido (Figura 2; a).

Na interação entre os preditores MFA e RHF, o índice de cobertura de epífilas é mais alto para valores de MFA acima de 100 g.m^{-2} , independentemente do valor da RHF que variou entre 30° (super-hidrofílica) e 80° (altamente molhável) (Figura 3; b). A variação da RHF também não afetou a incidência de epífilas em plantas com menos de 10 m (Figura 2; d). O ICE foi maior em plantas com até 10 m de altura e com valores de MFA entre 50 e 120 g.m^{-2} . Plantas com altura entre 10 m e 20 m apresentam maiores índices de cobertura epifílica, quando os valores de MFA ultrapassam 100 g.m^{-2} . Ainda que MFA tenha altos valores, plantas acima de 20 m não apresentaram alta cobertura epifílica (Figura 2; c).

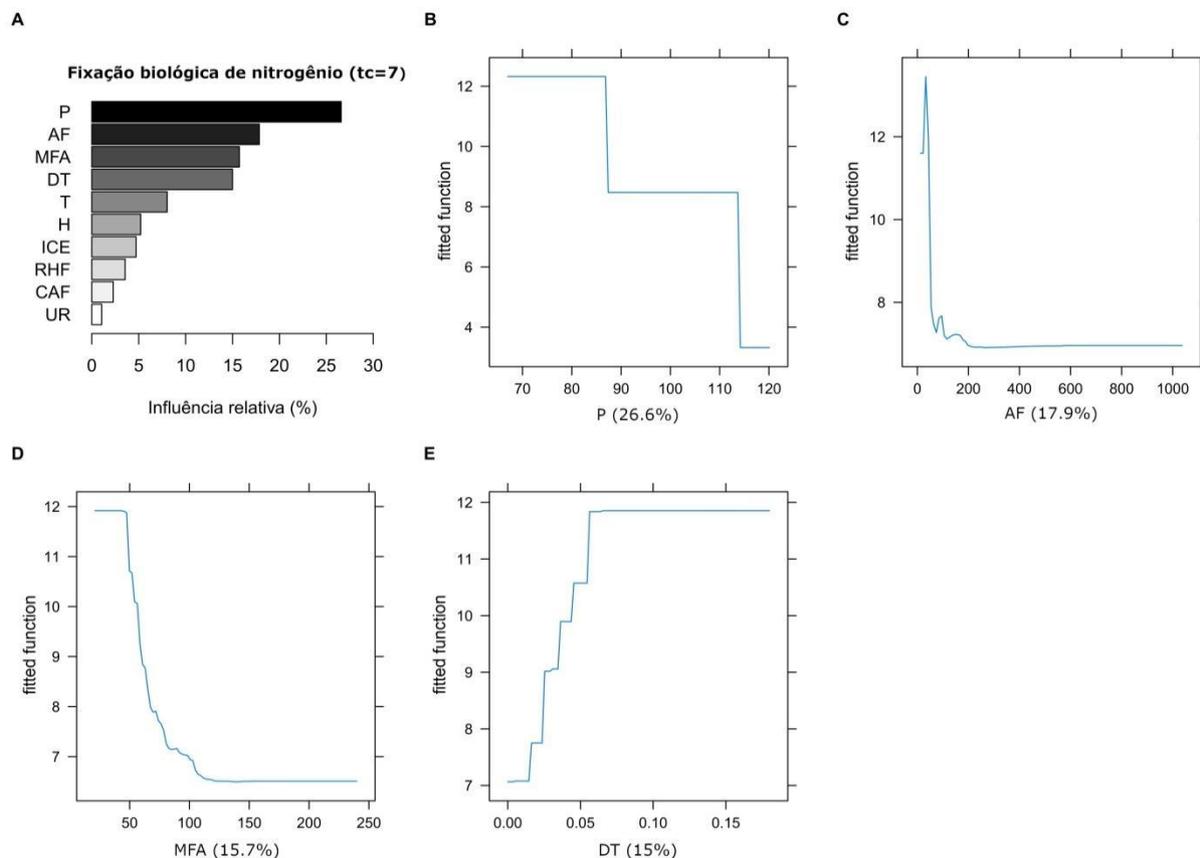
Figura 2 – Gráficos em perspectiva para examinar visualmente como as interações entre pares de características afetaram a variável resposta índice de cobertura de epífila. A intensidade das interações bidirecionais entre os preditores do índice de cobertura de epífilas é mostrada acima de cada gráfico. Tons mais escuros representam valores ajustados altos e tons mais claros representam valores ajustados mais baixos. Significa que as áreas com tons mais escuros correspondem às combinações dos valores das características que resultam em um maior índice de cobertura de epífilas, enquanto os tons mais claros correspondem às combinações dos valores das características que resultam em um menor índice de cobertura de epífilas.



Fonte: A autora, 2022.

Em relação à taxa de fixação biológica de nitrogênio, a variação foi explicada em 51.82% pelo modelo BRT. Conforme mostrado na Figura 3A, a precipitação contribuiu com 27.14% da variação explicada pelo modelo e a área foliar com 17.78%. A FBN diminuiu quando a precipitação foi maior que 80 mm, havendo um decréscimo acentuado em valores acima de 110 mm na FBN (Figura 3; B). A taxa de FBN alcançou um pico para valores de área foliar com cerca de 35 cm², enquanto para folhas com valores de AF maiores que 35 cm² ocorreu uma diminuição (Figura 3; C). MFA e DT contribuíram com 15.63% e 15.10% da variação explicada, respectivamente. Na Figura 3D observamos uma tendência de diminuição da FBN a partir de valores de MFA de 50 g.m⁻². A taxa de FBN aumentou gradativamente com o aumento das pontas de gotejamento e atingiu um platô para pontas maiores que 0.05 (cm m⁻²) (Figura 3; E). Em geral, esses resultados indicam que a taxa de fixação assimbiótica de nitrogênio é maior em períodos mais secos e em plantas com menor área foliar, altura menor que 14 m e em folhas com ápices foliares prolongados (maior drip-tip).

Figura 3 – A influência relativa dos preditores foi calculada pela média de 100 simulações para um valor ótimo de complexidade de árvore ($tc=7$) usando BRT. Taxas de fixação biológica assimbiótica de nitrogênio na floresta amazônica dependem da interação entre precipitação, área foliar, massa de folha por unidade de área, pontas de gotejamento e temperatura (A). Funções ajustadas para as quatro variáveis com maior influência no modelo. A função ajustada ao eixo y representa o efeito da variável selecionada na fixação biológica de nitrogênio: (B) precipitação, (C) área foliar, (D) massa de folha por unidade de área, (E) drip-tips.



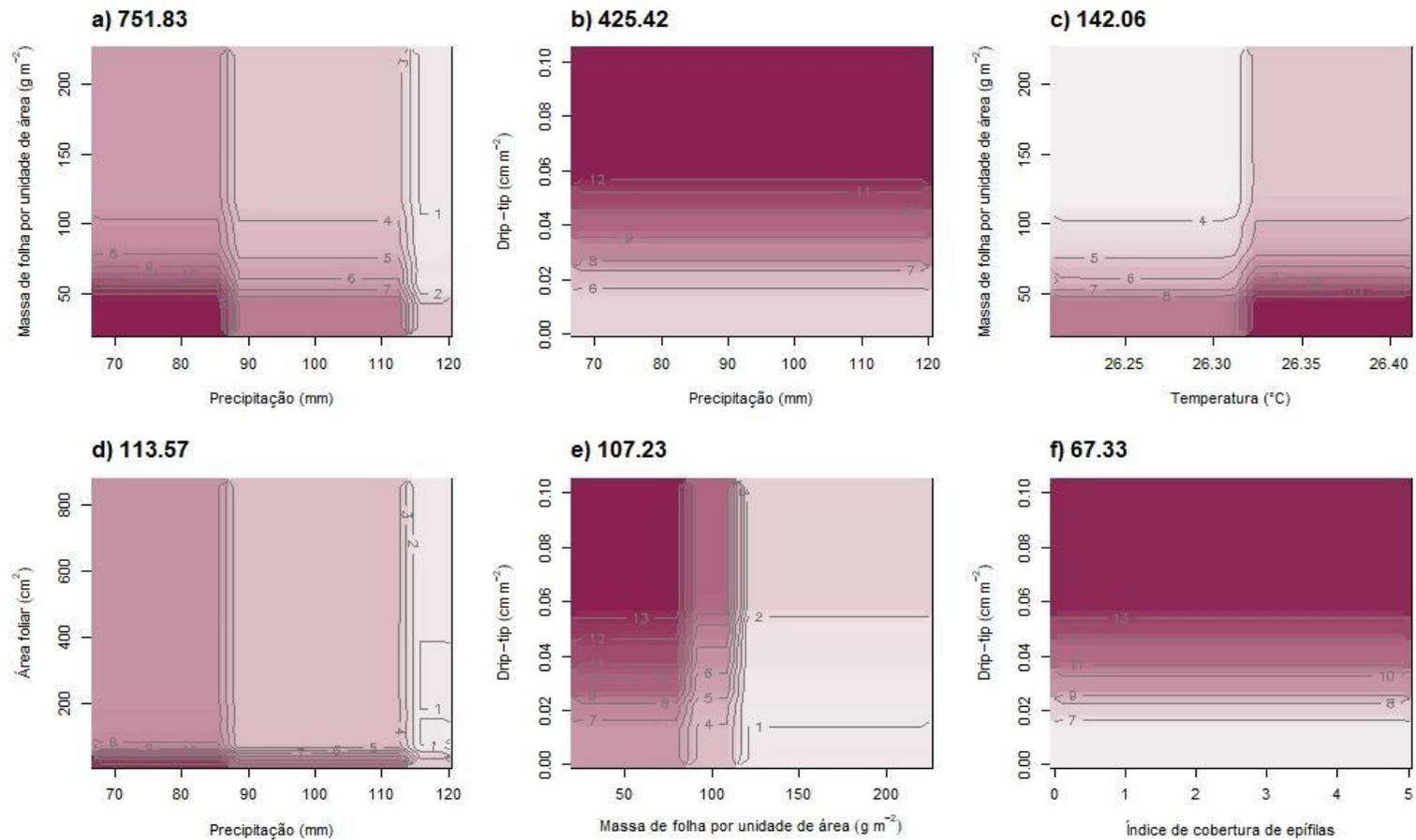
Legenda: AF, área foliar; CAF, conteúdo de água foliar; DT, drip-tips; H, altura; ICE, índice de cobertura de epífilas; MFA, massa de folha por unidade de área; P, precipitação; RHF, repelência hídrica foliar; T, temperatura; UR, umidade relativa.

Fonte: A autora, 2022.

Usamos o valor ótimo de $tc = 7$ e a função *gbm.interactions* para detectar as interações de maior intensidade de cada par de preditores do modelo. As seis interações de maior magnitude que afetaram a fixação biológica de nitrogênio foram: (i) massa de folha por unidade de área e precipitação; (ii) drip-tips e precipitação; (iii) massa de folha por unidade

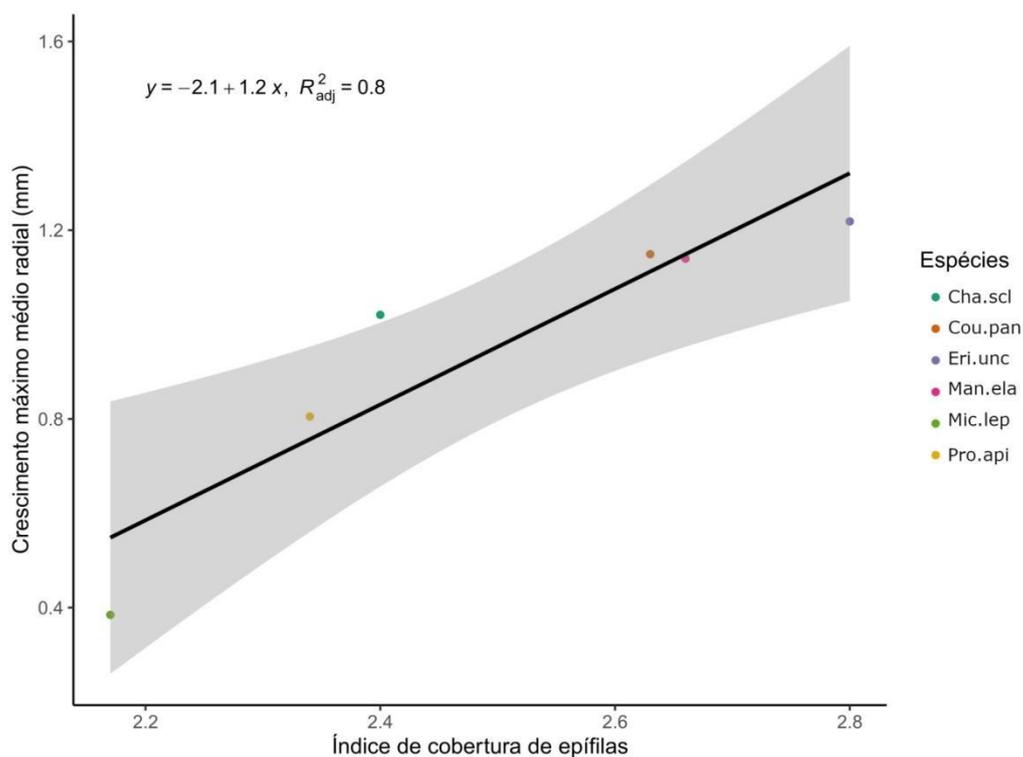
de área e temperatura; (iv) área foliar e precipitação; (v) drip-tips e massa de folha por unidade de área; (vi) drip-tips e índice de cobertura por epífilas (Figura 4). O gráfico da interação entre MFA e precipitação mostrou maior FBN, para valores de MFA abaixo de 50 g.m^{-2} em combinação com precipitação inferior a 90 mm (Figura 4; a). A FBN foi maior para as folhas com drip-tips maiores que 0.05 (cm m^{-2}), independente da variação na precipitação (Figura 4; b). No cenário de temperatura acima de 26.3 °C e valores de MFA acima de 50 g.m^{-2} a FBN foi mais alta. Por outro lado, mesmo com MFA acima de 50 g.m^{-2} a FBN decresce quando a temperatura está abaixo de 26.3 °C (Figura 4; c). Para precipitação abaixo de 90 mm e menor área foliar as taxas de fixação biológica de nitrogênio foram mais altas (Figura 4; d). A FBN apresentou uma variação crescente em conjunto com o aumento das pontas de drenagem a partir de 0.02 (cm m^{-2}), atingindo maiores taxas quando os valores de DT ultrapassam 0.06 (cm m^{-2}), independente da variação no índice de cobertura epifílica.

Figura 4 – Gráficos em perspectiva para examinar visualmente como as interações entre pares de características afetaram a variável resposta fixação biológica de nitrogênio. A intensidade das interações bidirecionais entre os preditores da fixação biológica de nitrogênio é mostrada acima de cada gráfico. Tons mais escuros representam valores ajustados altos e tons mais claros representam valores ajustados mais baixos. Significa que as áreas com tons mais escuros correspondem às combinações dos valores das características que resultam em taxas mais altas de fixação biológica de nitrogênio, enquanto os tons mais claros correspondem às combinações dos valores das características que resultaram em taxas de fixação biológica de nitrogênio mais baixo.



Para prever a relação entre a fixação biológica de nitrogênio e o incremento de biomassa utilizamos regressões lineares simples. Não observamos nenhuma relação significativa entre a FBN e o incremento de biomassa ($p > 0.05$). Em contrapartida, houve uma relação positiva entre o índice de cobertura de epífilas e o incremento de biomassa nas plantas durante o período do ENSO em 2015 (julho) ($R^2 = 0.8$; $p = 0.0097$; Figura 5).

Figura 5 – Relação entre o crescimento radial máximo médio (mm) e o índice de cobertura de epífilas em julho de 2015 ($y = -2.1 + 1.2x$; $R^2=0.8$; $p=0.0097$).



Legenda: Cha.scl, *Chamaecrista scleroxylon*; Cou.pan, *Coussarea paniculata*; Eri.un, *Erisma uncinatum*; Man.ela, *Manilkara elata*; Mic.lep, *Miconia lepidota*; Pro.api, *Protium apiculatum*.

Fonte: A autora, 2022.

2.4 Discussão

Características da planta hospedeira relacionadas à capacidade de repelir água, podem influenciar a suscetibilidade das folhas à cobertura por epífilas (Holder 2007; Rosado and Holder 2013), já que a formação de um filme de água na superfície foliar beneficia o estabelecimento de organismos com hábitos epifílicos (Holder 2007; Pinokiyo et al. 2006). Embora algumas avaliações tenham sido conduzidas na literatura, a questão foi avaliada com folhas artificiais ou com poucas espécies de plantas (Monge-Nájera and Blanco 1995; Ivey and De Silva 2001; Lucking and Bernecker Lucking 2005). Além disso, as avaliações não contemplaram mais de uma característica da planta hospedeira. Através da análise de um conjunto de características das plantas hospedeiras e fatores abióticos, identificamos que as características relacionadas à capacidade de reter ou repelir água, drip-tips e repelência hídrica foliar, não foram variáveis preditoras importantes para prever a suscetibilidade de plantas à cobertura da filosfera. Nossos resultados indicam que a altura das plantas, ou seja, a posição dos indivíduos no estrato vertical da floresta e a massa de folha por unidade de área, que pode indicar uma maior durabilidade foliar são as características da planta hospedeira que podem ser úteis para predição da suscetibilidade de plantas a cobertura por epífilas.

Apesar da nossa análise não indicar as características de molhabilidade foliar como determinantes na cobertura da filosfera na Amazônia, não significa, que a exposição à molhabilidade per se, não seja capaz de afetar a cobertura da filosfera. As plantas no sub-bosque em florestas tropicais estão expostas a alta umidade e baixa luminosidade, características propícias para o desenvolvimento de briófitas epífilas (Coley et al. 1996). Também foi demonstrado que briófitas epífilas variam em função de mudanças microclimáticas (Sonnleitner et al. 2009), o que, neste sentido, demonstra que as plantas de sub-bosque, independente das suas características de repelência/retenção hídrica foliar, são mais suscetíveis à colonização da filosfera.

A combinação de maior MFA com menor altura das plantas leva a uma maior cobertura de epífilas nas espécies Amazônicas (Figura 2; c). Espécies de sub-bosque apresentam folhas com uma vida útil longa associada a altos valores de MFA em comparação a espécies de habitats mais abertos (Valladares et al. 2000; Bongers and Popma 1990; Reich et al. 2002). Uma vez que a MFA representa o custo de construção da folha em carbono (Witkowski and Lamont 1991; Wright et al. 2004), altos valores de MFA indicam maior investimento das plantas em biomassa estrutural e menor em tecido fotossintético, o que

resulta em maior resistência a danos físicos e maior longevidade (Reich et al. 1999; Wright et al. 2002, 2004). Estudos anteriores relatam um aumento na cobertura da filosfera ao longo do tempo (Monge-Nájera 1989; Coley et al. 1993), sugerindo que folhas mais longevas estão expostas a propágulos de organismos epifílicos por períodos mais longos e, portanto, podem apresentar maior cobertura da superfície foliar em função do maior tempo de exposição. Ou seja, as superfícies com maior cobertura, além de estarem expostas às condições ambientais propícias para o desenvolvimento de epífilas, também precisam durar tempo suficiente (i.e. maior MFA e maior longevidade) para que a colonização ocorra. Isto é reforçado pelo fato de que mesmo plantas com menor altura, quando apresentam menores valores de MFA, representam uma combinação funcional que impede uma maior cobertura epifílica, o que provavelmente ocorre em função da menor durabilidade dos tecidos foliares (Fig. 2c).

Nossas análises indicaram que não há uma influência forte da repelência hídrica, quando combinada a MFA e altura, sobre a cobertura epifílica (Figura 2; b e Figura 2; c). Plantas com menor estatura apresentaram maior cobertura epifílica independente do grau de repelência hídrica foliar (Figura 2; d). Já a combinação entre RHF e MFA, indicou maior cobertura epifílica para plantas com maiores valores de MFA até valores de RHF em torno de 80°, quando as folhas são caracterizadas como altamente molháveis (Aryal and Neuner 2010). Registramos uma repelência hídrica foliar baixa na Amazônia, com valores entre 40° e 90°, compatíveis com os registrados em outros ambientes quentes e úmidos (Goldsmith et al. 2017) e caracterizando as folhas como altamente molháveis (Aryal and Neuner 2010). Sugere-se, a partir dos resultados encontrados, uma falha na categorização arbitrária da repelência hídrica foliar em super hidrofílicas, altamente molháveis, molháveis, não molháveis, altamente não molháveis hidrofóbicas e super-hidrofóbicas (Aryal and Neuner 2010). Ainda que plantas com RHF entre 40° e 90° sejam definidas como altamente molháveis, a maior cobertura epifílica se dá na combinação entre MFA e valores de RHF abaixo de 80°. O que reflete como, uma tênue diferença na capacidade de repelir menos água combinada à uma maior MFA, é suficiente para exercer efeito sobre a cobertura epifílica. Indicando a falta de acurácia do uso de categorias para descrever processos ecoidrológicos mesmo em pequenas escalas.

Um dos benefícios descritos na literatura da presença de epífilas para a planta hospedeira consiste no fornecimento de nitrogênio. Os organismos fixadores de nitrogênio associados às folhas, podem ser importantes para apoiar o crescimento da planta hospedeira. Alguns estudos mostram que as taxas de FBN aumentam com a idade das folhas e com a densidade da cobertura da filosfera (Freiberg 1998). Como a FBN é mediada por micro-

organismos associados às briófitas epífilas, estudos anteriores relataram a importância da cobertura de epífilas na filosfera para a atividade dos organismos fixadores de nitrogênio (Freiberg 1998; Wanek and Pörtl 2005). Analisamos um conjunto de características das plantas hospedeiras, o índice de cobertura por epífilas e fatores abióticos, para detectar quais fatores modulam as taxas de fixação biológica de nitrogênio em espécies de plantas amazônicas. Identificamos em nosso modelo, que a cobertura por epífilas não foi um dos preditores mais influentes para a FBN na Amazônia. Dessa forma, nossos resultados contrastam, com evidências anteriores que sugerem as epífilas como relevantes para retardar a secagem da superfície foliar, após eventos de molhabilidade (Freiberg 1998; Wanek and Pörtl 2005; Furnkränz 2008) e, portanto, influenciar positivamente as taxas de fixação biológica de nitrogênio.

Identificamos que as taxas de fixação de nitrogênio decrescem quando a precipitação é maior que 90 mm. A água livre nas folhas é um fator importante para manter a atividade dos organismos fixadores de nitrogênio, entretanto, chuvas intensas podem promover lixiviação dos organismos presentes na filosfera e afetar de forma negativa as taxas de FBN. Nossos resultados corroboram com o observado na Amazônia no período de seca extrema ocasionada pelo El-Niño. Durante o período de seca, as taxas de FBN aumentaram o que pode ser explicado pelo favorecimento de organismos diazotróficos em condições de menor disponibilidade de água (Moreira et al. 2020). Neste contexto, destacamos o papel das drip-tips no processo de fixação biológica do nitrogênio. Uma vez que, independentemente do nível de precipitação, o maior potencial de escoamento de água (i.e. maiores drip tips) apresentou efeito positivo para as taxas de FBN. Ainda que Moreira et al. (2020) tenham observado aumentos na FBN durante o El Niño, nossos resultados indicam como as características intrínsecas das espécies associadas à drenagem de água favorecem a FBN. Este resultado combinado ao observado por Malhado et al. (2012), que detectaram maior proporção de espécies com drip-tips em ambientes mais úmidos na Amazônia, nos permite hipotetizar que áreas na Amazônia que possuem espécies com maiores drip-tips e forem expostas a eventos mais severos de seca possuirão maior FBN.

Um dos aspectos mais relevantes na investigação sobre o papel ecológico dos organismos da filosfera corresponde a sua influência sobre as estratégias da planta hospedeira (Rosado et al. 2018). A capacidade de um macro-organismo (e.g. planta hospedeira) passar por filtros ambientais não depende apenas das suas próprias características funcionais, mas também das características dos organismos da filosfera. Portanto, o conjunto da filosfera — hospedeiro, que pode ser caracterizado como um holobionte deve ser contemplado do ponto

de vista funcional e de performance (Rosado et al. 2018). Por exemplo, ainda que uma planta possua características que permitam uma maior fotossíntese, epífilas briófitas podem reduzir estas taxas em 20 a 30%, como consequência da redução da interceptação de luz (Coley and Kursar 1996) e, por consequência, reduzir o incremento de biomassa e produtividade das florestas tropicais (Huete et al. 2006). Por outro lado, dentre os efeitos positivos para o hospedeiro ligados à FBN, Bentley and Carpenter (1984) demonstraram que as epífilas foram responsáveis por fixar 10 a 25% do nitrogênio de palmeiras no sub-bosque de uma floresta tropical na Costa Rica.

Nossa hipótese, indicava que maiores taxas de FBN decorrentes da maior cobertura por epífilas levariam ao aumento no crescimento vegetal. No entanto, descobrimos que a taxa de FBN não teve efeito direto sobre o incremento de biomassa. Apesar dos mecanismos por trás deste resultado serem incertos, podemos propor algumas hipóteses. A estimativa da cobertura de epífilas não contempla variações na composição e abundância dos organismos da filosfera, ao longo do tempo e entre espécies arbóreas, de modo que espécies com o mesmo ICE podem possuir uma composição da comunidade da filosfera que exerça efeitos distintos sobre a planta. De modo complementar, a medida realizada de FBN trata apenas da fixação assimbiótica de nitrogênio, o que reflete um efeito independente da composição dos potenciais organismos simbióticos presentes na filosfera. Assim como, observado por Moreira et al. (2020) nas mesmas espécies amazônicas, a identidade da planta hospedeira exerceu um efeito direto sobre as taxas de FBN, indicando que o efeito da filosfera sobre o crescimento pode ser específico. As briófitas epífilas absorvem nitrogênio mais rapidamente comparado às folhas da planta hospedeira, logo o nitrogênio pode não estar disponível para absorção das folhas com alta cobertura de epífilas (Wanek et al. 2004). Além disso, a relação positiva entre ICE e incremento de biomassa não precisa estar apenas vinculado a FBN. Outros processos mediados pela filosfera podem favorecer o crescimento da planta hospedeira, dentre eles, a absorção de água via foliar. Uma maior cobertura de epífilas na folha, se composta por organismos epifílicos hidrofílicos, pode promover maior retenção e consequente entrada de água pelas folhas (Rosado and Almeida 2020). Essa aquisição de água, ainda que não seja capaz de reidratar toda a planta, pode permitir a manutenção das trocas gasosas e favorecer a recuperação de embolia nos vasos foliares o que garantiria o ganho de carbono (Berry et al. 2019). Binks et al (2019) indicaram como o papel da absorção de água foliar é relevante para o ganho de carbono na Amazônia, até mesmo absorção de água do orvalho durante eventos de seca como o período de El-Niño contemplado no nosso estudo. Esse efeito pode ser ainda mais amplo se considerarmos o papel da filosfera nessa mediação (Rosado and Almeida

2020). O fato de o ICE ter explicado o incremento de biomassa na estação seca pode indicar essa possibilidade. Ainda que estas sejam hipóteses a serem testadas, o aspecto relevante que apresentamos aqui é o papel múltiplo da filosfera afetando o incremento de biomassa e, portanto, o funcionamento da floresta amazônica.

2.5 Conclusão

No geral, nossos resultados demonstraram quais são as características e fatores que influenciam a cobertura da filosfera das árvores em uma floresta tropical. Características morfológicas das folhas que reduzem a molhabilidade da superfície foliar são comumente indicadas como capazes de reduzir a incidência de organismos epifílicos. Contrariando as expectativas, descobrimos que drip-tips e repelência hídrica foliar não exerceram influência significativa na cobertura da filosfera. Além disso, a repelência à água nas folhas em nosso local de estudo foi baixa, o que pode ser insuficiente para influenciar o estabelecimento de organismos epifílicos. Em nossos resultados, encontramos a altura como a variável preditora mais influente, o que sugere a importância dos fatores microclimáticos para a incidência de epífilas nas folhas.

Demonstramos que a fixação biológica de nitrogênio depende da interação entre: área foliar, massa de folha por unidade de área, drip-tips e precipitação. Nossos resultados sugerem que o comprimento das drip-tips influencia positivamente a FBN, ou seja, não encontramos os efeitos negativos esperados da diminuição da molhabilidade foliar para FBN. Por fim, mostramos a relação positiva entre a cobertura de epífilas e o incremento de biomassa vegetal. Entretanto, a relação encontrada não parece ser mediada pela FBN. A presença de epífilas nas folhas pode beneficiar a planta por outros mecanismos como a absorção de água foliar (Rosado and Almeida 2020), e proporcionar à planta uma fonte alternativa de recurso hídrico, aumentando as chances de sobrevivência em situações de seca (Eller et al. 2013).

Elucidar os efeitos da presença de epífilas nas folhas nos vários eixos de estratégias das plantas e como estes organismos se relacionam com a fisiologia da planta (Rosado et al. 2018) são essenciais em um cenário de mudanças em ecossistemas de florestas tropicais. Uma melhor compreensão dos efeitos para a planta como indivíduo, para o nível da comunidade e funções do ecossistema deve continuar a ser de grande interesse. Para entender os papéis da filosfera para o hospedeiro, as abordagens utilizadas devem considerar a complexidade da filosfera.

REFERÊNCIAS

- Anthony PA, Holtum JAM, Jackes BR. 2002. Shade acclimation of rainforest leaves to colonization by lichens: Shade acclimation of leaves to foliicolous lichens. *Funct Ecol.* 16(6):808–816.
- Aryal B, Neuner G. 2010. Leaf wettability decreases along an extreme altitudinal gradient. *Oecologia.* 162(1):1–9.
- Bentley BL, Carpenter EJ. 1984. Direct transfer of newly-fixed nitrogen from free-living epiphyllous microorganisms to their host plant. *Oecologia.* 63(1):52–56.
- Berenguer E, Lennox GD, Ferreira J, Malhi Y, Aragão LEOC, Barreto JR, Del Bon Espírito-Santo F, Figueiredo AES, França F, Gardner TA, et al. 2021. Tracking the impacts of El Niño drought and fire in human-modified Amazonian forests. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 118(30):e2019377118. doi:10.1073/pnas.2019377118.
<http://dx.doi.org/10.1073/pnas.2019377118>.
- Bradley DJ, Gilbert GS, Parker IM. 2003. Susceptibility of clover species to fungal infection: the interaction of leaf surface traits and environment. *Am J Bot.* 90(6):857–864.
- Brando PM, Nepstad DC, Davidson EA, Trumbore SE, Ray D, Camargo P. 2008. Drought effects on litterfall, wood production and belowground carbon cycling in an Amazon forest: results of a throughfall reduction experiment. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences.* 363(1498):1839–1848.
- Burd M. 2007. Adaptive function of drip tips: a test of the epiphyll hypothesis in *Psychotria marginata* and *Faramea occidentalis* (Rubiaceae). *J Trop Ecol.* 23(4):449–455.
- Chave J, Muller-Landau HC, Baker TR, Easdale TA, ter Steege H, Webb CO. 2006. Regional and phylogenetic variation of wood density across 2456 Neotropical tree species. *Ecol Appl.* 16(6):2356–2367.

- Christian N, Herre EA, Mejia LC, Clay K. 2017. Exposure to the leaf litter microbiome of healthy adults protects seedlings from pathogen damage. *Proc Biol Sci.* 284(1858):20170641.
- Coley PD, Kursar TA, Machado J-L. 1993. Colonization of tropical Rain Forest leaves by epiphylls: Effects of site and host plant leaf lifetime. *Ecology.* 74(2):619–623.
- Coley PD, Kursar TA. 1996. Causes and consequences of epiphyll colonization. In *Tropical forest plant ecophysiology* (pp. 337-362). Springer, Boston, MA.
- Coley PD, Kursar TA. 1996. Causes and consequences of epiphyll colonization. In: *Tropical Forest Plant Ecophysiology*. Boston, MA: Springer US. p. 337–362.
- Cusack DF, Silver W, McDowell WH. 2009. Biological nitrogen fixation in two tropical forests: Ecosystem-level patterns and effects of nitrogen fertilization. *Ecosystems* (New York, N.Y.). 12(8):1299–1315.
- De'ath G. 2007. Boosted trees for ecological modeling and prediction. *Ecology.* 88(1):243–251.
- Dirzo R, Domínguez CA. 1995. Plant–herbivore interactions in Mesoamerican tropical dry forests. In: Bullock SH, Mooney HA, Medina E, editors. *Seasonally Dry Tropical Forests*. Cambridge: Cambridge University Press. p. 304–325.
- Elith J, Leathwick JR, Hastie T. 2008. A working guide to boosted regression trees. *The journal of animal ecology.* 77(4):802–813.
- Eller CB, Lima AL, Oliveira RS. 2013. Foliar uptake of fog water and transport belowground alleviates drought effects in the cloud forest tree species, *Drimys brasiliensis* (Winteraceae). *New Phytol.* 199(1):151–162.
- Evans KJ, Nyquist WE, Latin RX. 1992. A model based on temperature and leaf wetness duration for establishment of *Alternaria* leaf blight of muskmelon. *Phytopathology.* 82(8):890-895.

- Fanin N, Lin D, Freschet GT, Keiser AD, Augusto L, Wardle DA, Veen GFC. 2021. Home-field advantage of litter decomposition: from the phyllosphere to the soil. *New Phytol.* 231(4):1353–1358.
- Freiberg E. 1998. Microclimatic parameters influencing nitrogen fixation in the phyllosphere in a Costa Rican premontane rain forest. *Oecologia.* 117(1–2):9–18.
- Fürnkranz M, Wanek W, Richter A, Abell G, Rasche F, Sessitsch A. 2008. Nitrogen fixation by phyllosphere bacteria associated with higher plants and their colonizing epiphytes of a tropical lowland rainforest of Costa Rica. *ISME J.* 2(5):561–570.
- Galbraith D, Imbuzeiro H, Martins G, da Araujo AC, et al. 2017. Do dynamic global vegetation models capture the seasonality of carbon fluxes in the Amazon basin? A data-model intercomparison. *Global change biology.* 23(1):191–208.
- Generalized Boosted Regression Models [R package gbm version 2.1.8]. 2020 [accessed 2021 Aug 30]. <http://CRAN.R-project.org/package=gbm>
- Goldsmith GR, Bentley LP, Shenkin A, Salinas N, Blonder B, Martin RE, Castro-Ccosco R, Chambi-Porroa P, Diaz S, Enquist BJ, et al. 2017. Variation in leaf wettability traits along a tropical montane elevation gradient. *New Phytol.* 214(3):989–1001.
- Hardy RW, Holsten RD, Jackson EK, Burns RC. 1968. The acetylene-ethylene assay for n(2) fixation: laboratory and field evaluation. *Plant physiology.* 43(8):1185–1207.
- Hijmans RJ, Elith J. Species distribution modeling with R. *Psu.edu.* [accessed 2021 Aug 30]. <https://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.190.9177&rep=rep1&type=pdf>
- Holder CD. 2007. Leaf water repellency of species in Guatemala and Colorado (USA) and its significance to forest hydrology studies. *Journal of hydrology.* 336(1–2):147–154.
- Hothorn T. Simultaneous inference in general parametric models *. *R-project.org.* [accessed 2021 Aug 30]. <https://cran.rproject.org/web/packages/multcomp/vignettes/generalsiminf.pdf>

Huete AR, Didan K, Shimabukuro YE, Ratana P, Saleska SR, Hutrya LR, Yang W, Nemani RR, Myneni R. 2006. Amazon rainforests green-up with sunlight in dry season. *Geophys Res Lett.* 33(6). doi:10.1029/2005gl025583. <http://dx.doi.org/10.1029/2005gl025583>.

Ivey CT, DeSilva N. 2001. A test of the function of drip Tips1. *Biotropica.* 33(1):188–191.

Jiménez-Muñoz JC, Mattar C, Barichivich J, Santamaría-Artigas A, Takahashi K, Malhi Y, Sobrino JA, Schrier G van der. 2016. Record-breaking warming and extreme drought in the Amazon rainforest during the course of El Niño 2015–2016. *Scientific reports.* 6(1). <http://dx.doi.org/10.1038/srep33130>. doi:10.1038/srep33130

Last FT. 1955. Seasonal incidence of *Sporobolomyces* on cereal leaves. *Transactions of the British Mycological Society.* 38(3):221–239.

Leitold V, Morton DC, Longo M, dos-Santos MN, Keller M, Scaranello M. 2018. El Niño drought increased canopy turnover in Amazon forests. *The new phytologist.* 219(3):959–971.

Leveau JHJ. 2015. Life of microbes on aerial plant parts. In: *Principles of Plant-Microbe Interactions.* Cham: Springer International Publishing. p. 17–24.

Longo M. 2014. Amazon forest response to changes in rainfall regime: Results from an individual-based dynamic vegetation model. Doctoral dissertation, Harvard University.

Lücking R, Bernecker-Lücking A. 2005. Drip-tips do not impair the development of epiphyllous rain-forest lichen communities. *Journal of Tropical Ecology.* 21(2):171-177.

Malhado ACM, Malhi Y, Whittaker RJ, Ladle RJ, ter Steege H, Fabré NN, Phillips O, Laurance WF, Aragão LEOC, Pitman NCA, et al. 2012. Drip-tips are Associated with Intensity of Precipitation in the Amazon Rain Forest. *Biotropica.* 44(6):728–737.

Monge-Najera J, Blanco MA. 1995. The influence of leaf characteristics on epiphyllous cover: a test of hypotheses with artificial leaves. *Bryophyt Divers Evol.* 11(1):5–9.

Monge-Nájera, J. 1989. The relationship of epiphyllous liverworts with leaf characteristics and light in Monte Verde, Costa Rica. *Cryptogamie, Bryologie*. 10(4): 345–352.

Moreira JCF. 2018. Microbiomes of the Amazon forest: bacterial diversity and community structure in the phyllosphere, litter and soil. [São Paulo]: Universidade de São Paulo.

Mueller UG, Wolf-Mueller B. 1991. Epiphyll deterrence to the leafcutter ant *Atta cephalotes*. *Oecologia*. 86(1):36–39.

Neinhuis C, Barthlott W. 1997. Characterization and distribution of water-repellent, self-cleaning plant surfaces. *Annals of botany*. 79(6):667-677.

Pereira Alvarenga LD, Pôrto KC. 2007. Patch size and isolation effects on epiphytic and epiphyllous bryophytes in the fragmented Brazilian Atlantic forest. *Biol Conserv*. 134(3):415–427. doi:10.1016/j.biocon.2006.08.031.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.biocon.2006.08.031>.

Pinokiyo A, Singh KP, Singh JS. 2006. Leaf-colonizing lichens: their diversity, ecology and future prospects. *Curr Sci*. 90(4):509–518.

Pistón N, Bello F, Dias ATC, Götzenberger L, Rosado BHP, Mattos EA, Salguero-Gómez R, Carmona CP. 2019. Multidimensional ecological analyses demonstrate how interactions between functional traits shape fitness and life history strategies. *The Journal of ecology*. 107(5):2317–2328.

Pyle EH, Santoni GW, Nascimento HEM, Hutyra LR, Vieira S, Curran DJ, van Haren J, Saleska SR, Chow VY, Carmago PB, et al. 2008. Dynamics of carbon, biomass, and structure in two Amazonian forests: CARBON DYNAMICS IN TWO AMAZONIAN FORESTS. *Journal of geophysical research*. 113(G1). <http://dx.doi.org/10.1029/2007jg000592>.
doi:10.1029/2007jg000592

Reed SC, Cleveland CC, Townsend AR. 2008. Tree species control rates of free-living nitrogen fixation in a tropical rain forest. *Ecology*. 89(10):2924–2934.

Restrepo-Coupe N, Levine NM, Christoffersen BO, Albert LP, Wu J, Costa MH,

Reynolds KM, Madden LV, Reichard DL, Ellis MA. 1989. Splash dispersal of *Phytophthora cactorum* from infected strawberry fruit by simulated canopy drip. *Phytopathology*. 79(4):425-432.

Rice AH, Pyle EH, Saleska SR, Hutyra L, Palace M, Keller M, de Camargo PB, Portilho K, Marques DF, Wofsy SC. 2004. Carbon balance and vegetation dynamics in an old-growth amazonian forest. *Ecological applications: a publication of the Ecological Society of America*. 14(sp4):55–71.

Richards PW. 1996. *The tropical Rain Forest: An ecological study*. 2nd ed. Cambridge, England: Cambridge University Press.

Rosado BHP, Almeida LC, Alves LF, Lambais MR, Oliveira RS. 2018. The importance of phyllosphere on plant functional ecology: a phyllo trait manifesto. *New Phytol*. 219(4):1145–1149.

Rosado BHP, Almeida LC. 2020. The importance of phyllosphere on foliar water uptake. *Trends Plant Sci*. 25(11):1058–1060.

Rosado BHP, Holder CD. 2013. The significance of leaf water repellency in ecohydrological research: a review: LEAF WATER REPELLENCY IN ECOHYDROLOGICAL RESEARCH. *Ecohydrology*. 6(1):150–161.

Rosado BHP, Oliveira RS, Marinho Aida MP. 2010. Is leaf water repellency related to vapor pressure deficit and crown exposure in tropical forests? *Acta oecologica (Montrouge, France)*. 36(6):645–649.

Ruinen J. 1961. The phyllosphere: I. An ecologically neglected milieu. *Plant and soil*. 15(2):81–109.

Smith WK, McClean TM. 1989. Adaptive relationship between leaf water repellency, stomatal distribution, and gas exchange. *American journal of botany*. 76(3):465

Sonnleitner M, Dullinger S, Wanek W, Zechmeister H. 2009. Microclimatic patterns correlate with the distribution of epiphyllous bryophytes in a tropical lowland rain forest in Costa Rica. *J Trop Ecol.* 25(3):321–330.

Soykan CU, Eguchi T, Kohin S, Dewar H. 2014. Prediction of fishing effort distributions using boosted regression trees. *Ecological applications: a publication of the Ecological Society of America.* 24(1):71–83.

Valladares F, Wright SJ, Lasso E, Kitajima K, Pearcy RW. 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from Panamanian Rainforest. *Ecology.* 81(7):1925–1936.

Vitousek PM, Cassman K, Cleveland C, Crews T, Field CB, Grimm NB, Howarth RW, Marino R, Martinelli L, Rastetter EB, et al. 2002. Towards an ecological understanding of biological nitrogen fixation. In: *The Nitrogen Cycle at Regional to Global Scales.* Dordrecht: Springer Netherlands. p. 1–45.

Wanek W, Pörtl K. 2005. Phyllosphere nitrogen relations: reciprocal transfer of nitrogen between epiphyllous liverworts and host plants in the understorey of a lowland tropical wet forest in Costa Rica. *New Phytol.* 166(2):577–588.

Wanek W, Pörtl K. 2005. Phyllosphere nitrogen relations: reciprocal transfer of nitrogen between epiphyllous liverworts and host plants in the understorey of a lowland tropical wet forest in Costa Rica. *The new phytologist.* 166(2):577–588.

Witkowski ETF, Lamont BB. 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia.* 88(4):486–493.

Wright IJ, Reich PB, Westoby M, Ackerly DD, Baruch Z, Bongers F, Cavender-Bares J, Chapin T, Cornelissen JHC, Diemer M, et al. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature.* 428(6985):821–827.

Wright IJ, Westoby M, Reich PB. 2002. Convergence towards higher leaf mass per area in dry and nutrient-poor habitats has different consequences for leaf life span: Convergence towards higher LMA. *J Ecol.* 90(3):534–543.

Zartman CE, Ilkiu-Borges AL. 2007. Guide to the epiphyllous liverworts of Central Amazonia. INPA Press, Manaus, Brasil. 150 p.

Zartman CE. 2003. Habitat fragmentation impacts on epiphyllous bryophyte communities in central Amazonia. *Ecology*. 84(4):948–954. doi:10.1890/0012-9658(2003)084[0948:hfiob]2.0.co;2. [http://dx.doi.org/10.1890/0012-9658\(2003\)084\[0948:hfiob\]2.0.co;2](http://dx.doi.org/10.1890/0012-9658(2003)084[0948:hfiob]2.0.co;2).

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S1 – Relação das características utilizadas para elaboração dos modelos BRT.

	Acrônimo	Descrição	Unidade
Característica da planta hospedeira			
Área foliar	AF	Área da lâmina foliar fresca	cm ²
Conteúdo de água foliar	CAF	Teor de água na folha por unidade de área foliar	
Drip-tips	DT	Prolongamento do ápice foliar a partir do desvio do formato elíptico	cm m ⁻²
Altura	H	Altura da planta da base do solo até a copa	m
Índice de cobertura de epífilas	ICE	Cobertura da lâmina foliar adaxial por epífilas briófitas e líquens	-
Repelência hídrica foliar	RHF	Repelência da superfície foliar adaxial à água	o
Massa de folha por unidade de área	MFA	Massa seca foliar por unidade de área fresca foliar	g.m ⁻²
Características abióticas			
Precipitação	P	Precipitação média mensal	mm
Umidade relativa	UR	Umidade relativa média mensal	%
Temperatura média compensada	T	Método adotado pelo Inmet no qual a temperatura média é calculada a partir da média de três leituras e somada a temperatura máxima e mínima.	°C

Fonte: A autora, 2022.

Tabela S2 – Resultado da parametrização do modelo BRT com o ajuste e otimização conjunta dos parâmetros learning rate (lr), bag fraction (bf) e tree complexity (ntrees). Na etapa de calibração do modelo para as variáveis respostas (ICE e FBN), testamos diferentes combinações de lr (0.001 e 0.0005), bf (0.5 ou 0.75), step size (25 ou 50) e o valor de tc foi fixo em 10. Selecionamos os parâmetros que obtiveram um mínimo de 1.000 árvores e o maior desvio explicado (%) (Elith et al. 2008, Pistón et al. 2019). Os parâmetros ideais selecionados são mostrados em negrito.

Variável resposta	lr	bf	<i>step size</i> <i>ntrees</i>	#trees	E.D. (%)
Índice de cobertura de epífilas	0.001	0.5	25	3250	45.60204
	0.001	0.75	25	2575	43.24432
	0.001	0.5	50	3900	45.36236
	0.001	0.75	50	2450	43.36609
	0.0005	0.5	25	6625	45.6429
	0.0005	0.75	25	4900	46.7045
	0.0005	0.5	50	7100	41.74236
	0.0005	0.75	50	5650	44.01222
Fixação biológica de nitrogênio	0.001	0.5	25	2875	49.72542
	0.001	0.75	25	2425	51.34655
	0.001	0.5	50	3250	50.37712
	0.001	0.75	50	2600	50.98335
	0.0005	0.5	25	5825	53.23295
	0.0005	0.75	25	4550	48.99737
	0.0005	0.5	50	6150	52.34604
	0.0005	0.75	50	5300	52.29399

Tabela S3 – As letras indicam o resultado do teste de Tukey, após a execução de 100 modelos BRT para cada valor de tree complexity (tc) para as variáveis respostas (ICE e FBN). Realizamos um modelo linear com R^2 como variável resposta e tc como variável explicativa. Valores ideais de tc para cada uma das variáveis respostas são mostrados em negrito.

tc	Índice de cobertura de epífilas (ICE)	Fixação biológica de nitrogênio (FBN)
1	a	a
2	b	b
3	c	c
4	d	d
5	e	e
6	f	f
7	g	g
8	h	g
9	i	g
10	j	g
11	k	g
12	l	g
13	m	g
14	m	g
15	m	g

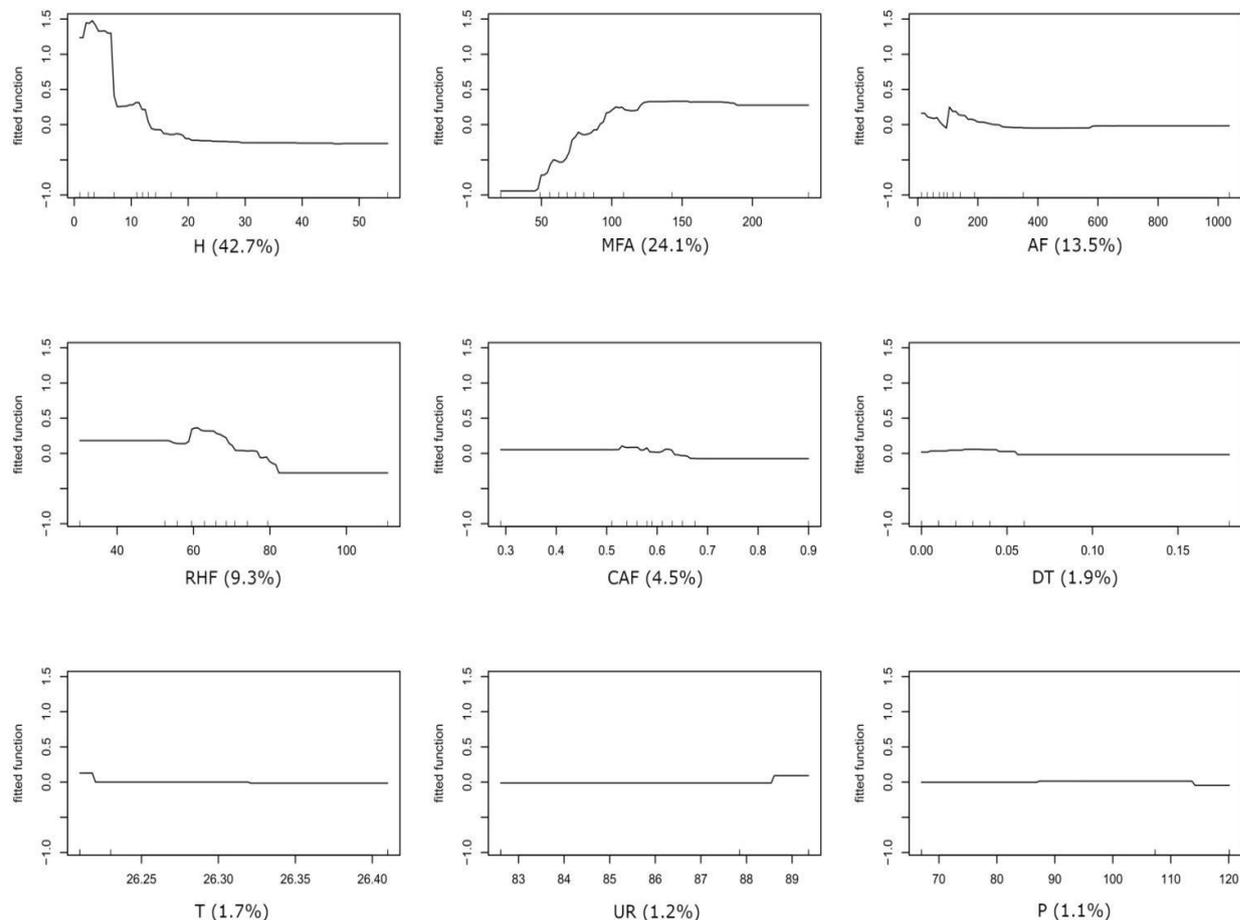
Tabela S4 – Intensidade da interação entre as variáveis predictoras para índice de cobertura de epífilas e fixação biológica de nitrogênio.

		H	CAF	AF	DT	RHF	MFA	P	T	UR	
Índice de cobertura de epífilas	H	0	0.7	2.08	0.28	20.13	30.61	0.39	0.07	0.14	
	CAF	0	0	0.46	0.02	2.91	0.18	0.02	0.17	0.37	
	AF	0	0	0	0.08	0.86	52.01	0.01	0.02	0.03	
	DT	0	0	0	0	0.06	0.32	0	0.01	0.01	
	RHF	0	0	0	0	0	36.1	0.19	0.13	0.11	
	MFA	0	0	0	0	0	0	0.14	0.18	0.2	
	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	UR	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		H	CAF	AF	DT	RHF	MFA	ICE	P	T	UR
Fixação biológica de nitrogênio	H	0	1.97	8.18	2.28	2.59	1.73	0.47	16.51	4.27	0
	CAF	0	0	2.79	3.66	0.91	25.21	1.58	23.18	8.66	0.26
	AF	0	0	0	3.57	0.78	10.4	6.98	113.57	5.78	0.22
	DT	0	0	0	0	0.78	107.23	67.33	425.42	32.02	0.27
	RHF	0	0	0	0	0	4.99	2.86	41.4	18.07	2.09
	MFA	0	0	0	0	0	0	4.33	751.83	142.06	3.52
	ICE	0	0	0	0	0	0	0	4.49	0.16	0.26
	P	0	0	0	0	0	0	0	0	0.65	2.04
	T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.91
	UR	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Legenda: AF, área foliar; CAF, conteúdo de água foliar; DT, drip-tips; H, altura; ICE, índice de cobertura de epífilas; MFA, massa de folha por unidade de área; P, precipitação; RHF, repelência hídrica foliar; T, temperatura; UR, umidade relativa. A intensidade da interação entre os preditores é mostrada em negrito.

Fonte: A autora, 2022.

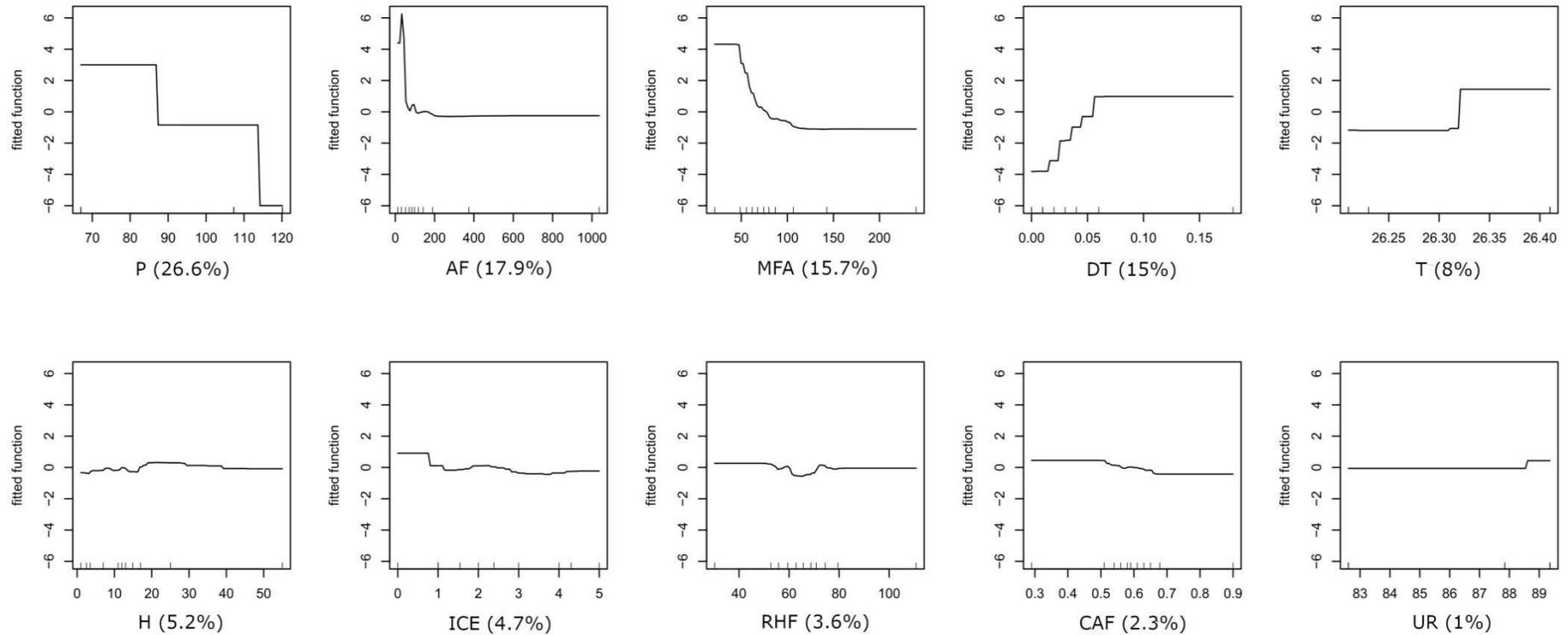
Figura S5 – Funções ajustadas para as oito variáveis no modelo. A função ajustada ao eixo y representa o efeito da variável selecionada na variável resposta índice de cobertura de epífilas.



Legenda: AF, área foliar; CAF, conteúdo de água foliar; DT, drip-tips; H, altura; MFA, massa de folha por unidade de área; P, precipitação; RHF, repelência hídrica foliar; T, temperatura; UR, umidade relativa.

Fonte: A autora, 2022.

Figura S6 – Funções ajustadas para as oito variáveis no modelo. A função ajustada ao eixo y representa o efeito da variável selecionada na variável de resposta fixação biológica de nitrogênio.



Legenda: AF, área foliar; CAF, conteúdo de água foliar; DT, drip-tips; H, altura; ICE, índice de cobertura de epífilas; MFA, massa de folha por unidade de área; P, precipitação; RHF, repelência hídrica foliar; T, temperatura; UR, umidade relativa.

Fonte:

A

autora,

2022.

CONCLUSÃO GERAL

Nesta tese, realizamos uma extensa revisão sobre a interação entre os organismos da filosfera na biologia da planta hospedeira e nos processos ecossistêmicos em ambientes naturais. Em nossa revisão, evidenciamos que o papel ecológico das epífilas é tipicamente investigado como uma interação binária, contemplando um táxon de epífila e sua planta hospedeira, e negligenciando em grande parte, a interação mútua com os outros organismos residentes na filosfera. Além disso, sugerimos que os relacionamentos fracos ou não identificados nos estudos apresentados podem ser atribuídos a uma seleção inadequada de características funcionais.

Conduzimos uma abordagem contemplando múltiplas características da planta hospedeira e parâmetros ambientais para responder quais são as características e fatores que influenciam a cobertura de epífilas nas folhas de árvores em uma floresta tropical. Nossa hipótese inicial era que características morfológicas das folhas que reduzem a molhabilidade da superfície foliar modulam a incidência de organismos epifílicos. No entanto, descobrimos que drip-tips e repelência hídrica foliar não exerceram influência significativa na cobertura da filosfera. Nossos resultados sugerem a altura como a variável preditora mais influente, o que ressalta a importância dos fatores microclimáticos para a incidência de epífilas nas folhas.

Demonstramos que a fixação biológica de nitrogênio depende da interação entre características da planta, tais como área foliar, massa de folha por unidade de área e drip-tips e da precipitação. Também não encontramos influência da cobertura epifílica nas taxas de FBN como inicialmente hipotetizado. Em contrapartida, nossos resultados sugerem que o comprimento de drip-tips influencia positivamente a FBN. Por último, hipotetizamos uma relação positiva entre as taxas de FBN e o incremento de biomassa mediado pela cobertura por epífilas. Contudo, encontramos uma relação positiva entre a cobertura por epífilas e incremento de biomassa, que não parece ser mediada pela FBN. Sugerimos que outros mecanismos como, a absorção de água foliar beneficiem o crescimento da planta hospedeira.

Nosso estudo sobre a interação planta — filosfera pode fornecer novos insights sobre como as características do hospedeiro afetam a suscetibilidade da planta à cobertura da filosfera. Além disso, nosso estudo demonstrou a necessidade da realização de novas investigações, incluindo estudos sobre a absorção de água foliar e investigações que contemplem a interação dos diferentes organismos da filosfera.