

ATRIBUTOS FUNCIONAIS DA FOLHA E DO LENHO DE ESPÉCIES  
ARBÓREAS OCORRENTES EM UMA FLORESTA OMBRÓFILA  
DENSA ALAGADA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

NEILOR LACORTE BORGES

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

CAMPOS DOS GOYTACAZES

2022

ATRIBUTOS FUNCIONAIS DA FOLHA E DO LENHO DE ESPÉCIES  
ARBÓREAS OCORRENTES EM UMA FLORESTA OMBRÓFILA  
DENSA ALAGADA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

NEILOR LACORTE BORGES

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

Orientadora: Dra. Maura Da Cunha

Campos dos Goytacazes – RJ

Fevereiro de 2022

**FICHA CATALOGRÁFICA**  
UENF - Bibliotecas  
Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

B732 Borges, Neilor Lacôrte.

ATRIBUTOS FUNCIONAIS DA FOLHA E DO LENHO DE ESPÉCIES ARBÓREAS  
OCORRENTESEM UMA FLORESTA OMBRÓFILA DENSA ALAGADA DO ESTADO DO  
RIO DE JANEIRO / Neilor Lacôrte Borges. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2022.

102 f.  
Inclui bibliografia.

Tese (Doutorado em Biociências e Biotecnologia) - Universidade Estadual do Norte Fluminense  
Darcy Ribeiro, Centro de Biociências e Biotecnologia, 2022.  
Orientadora: Maura da Cunha.

1. Morfoanatomia. 2. Ecofisiologia. 3. Anatomia do lenho. 4. Plasticidade fenotípica. 5. Áreas  
alagadas. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 570

ATRIBUTOS FUNCIONAIS DA FOLHA E DO LENHO DE ESPÉCIES  
ARBÓREAS OCORRENTES EM UMA FLORESTA OMBRÓFILA  
DENSE ALAGADA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

NEILOR LACORTE BORGES

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

Orientadora: Dra. Maura Da Cunha

Comissão examinadora

---

Prof. João Paulo Rodrigues Marques USP – Dr. em Ciências/ESALQ/USP

---

Prof. Ivone Vieira da Silva UNEMAT – Dra. em Ciências Biológicas/UNESP

---

Dr. Fabio Lopes Olivares UENF – Dr. em Agronomia/UFRRJ

---

Dra. Maura Da Cunha -UENF – Dra. em Ciências/UFRRJ  
(Orientadora)

Campos dos Goytacazes – RJ

Fevereiro de 2022

O presente trabalho foi desenvolvido no setor de Biologia Vegetal do Laboratório de Biologia Celular e Tecidual, pertencente ao Centro de Biociências e Biotecnologia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, sob orientação da Dra. Maura Da Cunha, com financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Financiamento 001, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e bolsa de doutorado concedida ao NLB pela CAPES.

Dedico esta obra a Jesus Cristo  
e a meu querido e amado pai  
Nei Benevente Borges

Gratidão a Deus por mais essa benção

*“O homem não pode receber coisa alguma, se lhe não for dado do céu”*

*João 3: 27*

## AGRADECIMENTOS

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

A minha orientadora Dra. Maura Da Cunha, por ter me dado a oportunidade e contribuir para que mais essa etapa de minha vida fosse concretizada.

Aos membros, ex-membros, e agregados do grupo da professora Maura: Marcos José, Priscila Simioni, Vanessa Xavier, Leticia Lannes, Renata Pegoral, Camilla Ribeiro, Gabriel Amaral, Gabriel Oliveira, Dhiego Oliveira, Glaziele Campbell, João Victor Castellar, Rodrigo Barbosa, Warlen Costa, Guilherme Rabelo, Jonas de Brito, Nycolle Bautz, Lara Ribeiro, Fernanda Trindade, Gilmar Maiolino.

A Dra. Leticia Rocha pela criteriosa revisão deste trabalho, e contribuição na realização deste.

A Dr. Clovis de Paula, desde o início por conversar comigo em vários momentos e me incentivar em relação ao meu trabalho. Aos membros da banca Dr. João Paulo Rodrigues Marques, Dra. Ivone Vieira da Silva, Dr. Fabio Lopes Olivares pelo aceite do convite.

Aos amigos de república e fieis companheiros: Saulo Pireda, Gabriel Amaral e Dhiego Oliveira, Luis Mazorra, Sergio Souza e Marcos José.

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

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

A CAPES pela concessão da bolsa e a FAPERJ pelo apoio técnico.

Ao Sr. Gustavo Peixoto por toda a ajuda e hospedagem na REBIO, assim como todo o apoio a logística para a realização dos trabalhos de campo.

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

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

Aos meus pais, Nei Benevente Borges e Nilcineia da Silva Lacorte, por terem me ensinado o verdadeiro valor da vida, e por sempre ser meu suporte, as vezes financeiro,

para que eu pudesse chegar até aqui.

Aos meus irmãos: Nataly, Nei e Nivea, pelo incentivo nos momentos difíceis.

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

## LISTA DE FIGURAS

### Introdução

Figura 1.	Mapa dos Hotpots Globais.....	17
Figura 2.	Mapa da distribuição das fitofisionomias da Mata Atlântica. (SOS Mata Atlântica 2019) .....	22
Figura 3.	Esquema da Subdivisão em faixas Altimétricas da Floresta Floresta Ombrófila Densa .....	23
Figura 4.	Características gerais da Reserva Biológica Poço das Antas (REBIO).....	25

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Fitofisionomias Vegetais inseridas no Domínio da Mata Atlântica.....	18
-----------	--	----

### Capítulo 1

Figure 1.	Cross sections of the leaf blades of <i>Guarea guidonia</i> , <i>Andira anthelmia</i> , and <i>Vernonanthura discolor</i> observed with light microscopy.....	42
Figure 2.	Linear regression ( $p \leq 0.05$ ) between the anatomical attributes of the leaf blades of <i>Guarea guidonia</i> (diamond), <i>Andira anthelmia</i> (circles), and <i>Vernonanthura discolor</i> (triangles) in response to flooded and non-flooded conditions.....	44
Figure 3.	Ultrastructural characterization of chloroplasts from <i>Guarea guidonia</i> , <i>Andira anthelmia</i> , and <i>Vernonanthura discolor</i> performed by transmission electron microscopy.....	45
Figure 4.	Mean values ( $\pm$ standard deviation) of photosystem II performance evaluated during the day using chlorophyll <i>a</i> fluorescence for the species <i>Guarea guidonia</i> , <i>Andira anthelmia</i> , and <i>Vernonanthura discolor</i> in flooded (grey bar) and non-flooded (white bar) areas.....	47
Figure 5.	Analysis of plasticity and phenotypic integration of species <i>Guarea guidonia</i> , <i>Andira anthelmia</i> , and <i>Vernonanthura discolor</i> in relation to contrasting flooding conditions. ....	49
Supplementary Figura 1.	Characterization of the study area.....	60

### Capítulo 2

Figura 1.	Caracterização da área de estudo e distância entre as áreas não alagada e alagada.....	66
-----------	--	----

Figura 2.	Anatomia do lenho de <i>Guarea guidonia</i> , na área alagada e não alagada.....	70
Figura 3.	Anatomia do lenho de <i>Andira anthelmia</i> , na área alagada e não alagada.....	71
Figura 4.	Anatomia do lenho de <i>Vernonanthura discolor</i> , na área alagada e não alagada.....	72
Figura 5.	Análise de componentes principais (PCA) para as espécies: <i>Guarea guidonia</i> , <i>Andira Anthelmia</i> e <i>Vernonathura discolor</i> .....	75

## LISTA DE TABELAS

### Capítulo 1

- Table 1. Characterization of environmental conditions between non-flooded and flooded area.....35
- Table 2. Mean values ( $\pm$  standard deviation) of the morphological, anatomical, and photosynthetic pigment attributes of the species *Guarea guidonia*, *Andira anthelmia*, and *Vernonanthura discolor* in a flooded and non-flooded area.....40

### Capítulo 2

- Tabela 1. Caracterização das condições ambientais entre as áreas não alagada e alagada .....65
- Tabela 2. Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) dos atributos funcionais do lenho das espécies *Guarea guidonia*, *Andira Anthelmia* e *Vernonathura discolor* entre as áreas Alagada e Não Alagada.....73

## RESUMO

Florestas Ombrófilas Densas são ecossistemas ricos em biodiversidade, essenciais na preservação de várias espécies endêmicas e ameaçadas de extinção. Variações ambientais ameaçam essa biodiversidade, pois as espécies são suscetíveis a vários fatores ambientais, incluindo alagamentos permanentes. Este efeito climático sugere condições limitantes para o desenvolvimento das plantas. No entanto, muitas espécies desenvolvem estratégias para superar esse problema e sobreviver nesses ecossistemas alagados. Para isso, essas plantas precisam se aclimatar às condições de alagamento, desenvolvendo atributos que garantam seu sucesso. Assim, o presente estudo tem como objetivo investigar os principais atributos anatofuncionais da folha e da madeira que permitiram a aclimatação de *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae), *Andira anthelmia* (Vell.) Benth. (Fabaceae) e *Vernonanthura discolor* (Spreng.) H. Rob. (Asteraceae) em área alagada. Essas espécies foram selecionadas com base em sua ocorrência na área alagada. Para alcançar os objetivos, foram realizadas análises da folha e no lenho em microscopia óptica e eletrônica de transmissão, a fim de identificar os atributos morfoanatômicos das espécies arbóreas selecionadas. Análises do rendimento quântico do fotossistema II (PSII), do desempenho fotossintético e dos pigmentos fotossintetizantes foram feitos, a fim de entender os efeitos fisiológicos do alagamento nas espécies. As espécies apresentaram folhas mais espessas e com maior massa foliar específica na área alagada. Esses resultados foram diretamente influenciados pelo maior espessamento do parênquima paliádico e lacunoso. Apesar das folhas apresentarem tecidos foliares mais espessos na área alagada, este fato não influenciou na suculência foliar, sendo observados valores maiores apenas para *V. discolor*. Os valores de área foliar foram menores na área alagada para todas as espécies, sugerindo que a hipoxia reduziu a absorção e transporte de íons, acarretando redução desse parâmetro. A densidade foliar não apresentou um padrão de resposta entre espécies e áreas de estudo, sendo observados maiores valores para *G. guidonia* na área alagada e *A. anthelmia* na área não alagada, enquanto, *V. discolor* não apresentou diferenças significativas. Com relação aos atributos estomáticos, foi observado que as espécies apresentaram maior densidade de estômato/mm<sup>2</sup> na área alagada. Por outro lado, a área estomática mostrou variações entre as áreas de estudo somente para a espécie *A. anthelmia*. Deste modo, sugere-se que as espécies estudadas desenvolveram aclimações a fim de contornarem dificuldades relacionados ao excesso de água e aos déficits de oxigênio causado pelo alagamento. A anatomia do lenho mostrou que as espécies não seguiram um padrão de respostas. Assim as espécies *A. anthelmia* e *V. discolor* apresentaram menores frequências de vasos, com maiores diâmetros tangencial e radial, fibras com maiores valores de diâmetro, comprimento e espessura da parede, além de maior comprimento de parênquima axial na área alagada. Já a espécie *G. guidonia* apresentou resultados divergentes em relação a essas espécies citadas, com maiores frequências de vasos, de menores diâmetros e comprimentos, fibras com menores valores de comprimentos e espessura da parede, e também parênquima radial com maiores valores na área alagada. Esses resultados sugerem que majoritariamente *G. guidonia* investiu em segurança como estratégia em seu desenvolvimento no ambiente alagado. Enquanto as espécies *A. anthelmia* e *V. discolor* investiram em eficiência sob as mesmas condições. Através dos resultados é possível inferir que as espécies ajustaram inúmeros atributos funcionais da folha e do lenho para suportar as condições de baixa difusão de O<sub>2</sub>, baixa concentração de nutrientes, e alta saturação hídrica.

Palavras-chaves: Morfoanatomia, Ecofisiologia, Anatomia do lenho, Plasticidade fenotípica, Áreas alagadas.

## ABSTRACT

Dense Ombrophilous Forests are ecosystems rich in biodiversity and are essential in preserving several endemic and endangered species. Environmental variations threaten this biodiversity as species are susceptible to various environmental factors, including permanent flooding. This climatic effect, creating limiting conditions for plant development. However, many species develop strategies to overcome this problem and survive in these flooded ecosystems. For that, these plants need to establish acclimatizations to the flooding conditions, developing attributes that guarantee their success. Thus, the present study aims to investigate the main anatomofunctional attributes of the leaf and wood that allowed the acclimatization of *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae), *Andira anthelmia* (Vell.) Benth. (Fabaceae) and *Vernonanthura discolor* (Spreng.) H. Rob. (Asteraceae) in flooded air environments. These species were selected based on their occurrence in the flooded area. Leaf and wood analyzes were carried out under optical and electronic microscopy, to identify the characteristic morphoanatomical attributes of the selected tree species. Analyses of PSII quantum yield, photosynthetic performance, and photosynthetic pigments were performed to understand the physiological effects of flooding in the species. All species had thicker leaves and greater specific leaf mass in the flooded area. These results were directly influenced by the greater thickening of the palisade and spongy parenchyma. Although the leaves have thicker leaf tissue in the flooded area, this fact did not influence leaf succulence, with higher values being observed only for *V. discolor*. Leaf area values were lower in the flooded area for all species, suggesting that hypoxia reduced ion absorption and transport, reducing this parameter. Leaf density did not show a response pattern between species and study areas, with higher values being observed for *G. guidonia* in the flooded area and *A. anthelmia* in the non-flooded area. In contrast, *V. discolor* did not show significant differences. Regarding the stomatal attributes, all species presented higher stomata density/mm<sup>2</sup> in the flooded area. On the other hand, the stomatal area showed variations between the study areas only for the species *A. anthelmia*. Thus, it is suggested that the studied species developed acclimatizations to overcome all the problems related to excess water and oxygen deficits caused by flooding. Wood anatomy showed that the species did not follow a pattern of responses. Thus, the species *A. anthelmia* and *V. discolor* presented lower vessel frequencies, with larger tangential and radial diameters, fibers with higher values of diameter, length, and thickness of the wall, in addition to a greater length of axial parenchyma in the flooded area. The *G. guidonia* species presented divergent results to these mentioned species, with higher vessels' frequencies, smaller diameters and lengths, fibers with lower values of length and wall thickness, and radial parenchyma with higher values in the flooded area. These results suggest that most *G. guidonia* invested in safety as a strategy in its development in the flooded environment, as the species *A. anthelmia* and *V. discolor* invested in efficiency under the same conditions. The results show that all species adjusted numerous functional attributes of leaf and wood to support conditions of low O<sub>2</sub> diffusion, low nutrient concentration, and high water saturation.

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	16
<b>2.</b>	<b>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	21
<b>2.1</b>	<b>Mata Atlântica</b> .....	21
<b>2.2</b>	<b>Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas</b> .....	23
<b>2.3</b>	<b>Reserva Biológica Poço das Antas (REBIO)</b> .....	24
<b>2.4</b>	<b>Respostas Adaptativas</b> .....	26
<b>2.5</b>	<b>Adaptações Estruturais e Fisiológicas ao Alagamento</b> .....	27
<b>2.6</b>	<b>Variações intraespecífica de plantas em resposta ao alagamento</b> .....	28
<b>3.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	30
<b>3.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	30
<b>3.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	30
<b>4.</b>	<b>Capítulo 1: Functional variability of the morphoanatomical and physiological traits of native species leaves in a flooded tropical forest</b> .....	32
<b>4.1</b>	<b>Abstract</b> ... ..	32
<b>4.2</b>	<b>Introduction</b> .....	33
<b>4.3</b>	<b>Materials and Methods</b> .....	34
<i>4.3.1</i>	<i>Study area</i> .....	34
<i>4.3.2</i>	<i>Species selection and analysis period</i> .....	35
<i>4.3.3</i>	<i>Measurement of leaflet morphological parametes</i> .....	35
<i>4.3.4</i>	<i>Measurement of leaf anatomical traits</i> .....	36
<i>4.3.5</i>	<i>Anatomical analysis</i> .....	36
<i>4.3.6</i>	<i>Ultrastructural analysis</i> .....	37
<i>4.3.7</i>	<i>Chlorophyll a fluorescenne</i> .....	37
<i>4.3.8</i>	<i>Photosynthetic pigments</i> .....	37
<i>4.3.9</i>	<i>Plasticity and phenotypic integration</i> .....	38
<i>4.3.10</i>	<i>Statistical analysis</i> .....	38
<b>4.4</b>	<b>Results</b> .....	39
<i>4.4.1</i>	<i>Morphological leaf blade traits</i> .....	39

4.4.2	<i>Anatomical leaf blade traits</i> .....	41
4.4.3	<i>Chloroplast ultrastructure</i> .....	45
4.4.4	<i>Chlorophyll a fluorescence and photosynthetic pigment content</i> .....	46
4.4.5	<i>Plasticity and integration phenotypic</i> .....	48
<b>4.5</b>	<b>Discussion</b> .....	<b>49</b>
<b>4.6</b>	<b>Conclusion</b> .....	<b>53</b>
<b>4.7</b>	<b>Reference</b> .....	<b>55</b>
<b>5.</b>	<b>Capítulo 2: Variação intraespecífica na anatomia da madeira de espécies arbóreas ocorrentes em áreas alagadas da mata atlântica</b> .....	<b>61</b>
<b>5.1</b>	<b>Resumo</b> .....	<b>61</b>
<b>5.2</b>	<b>Abstract...</b> .....	<b>62</b>
<b>5.3</b>	<b>Introdução</b> .....	<b>63</b>
<b>5.4</b>	<b>Material e Métodos</b> .....	<b>64</b>
5.4.1	<i>Área de estudo</i> .....	64
5.4.2	<i>Seleção das espécies</i> .....	65
5.4.3	<i>Processamento do lenho</i> .....	66
5.4.4	<i>Análise estatística</i> .....	67
<b>5.5</b>	<b>Resultados</b> .....	<b>67</b>
5.5.1	<i>Atributos anatômicos do lenho</i> .....	68
5.5.2	<i>Índice de vulnerabilidade e mesomorfia</i> .....	71
5.5.3	<i>Análise dos componentes principais (PCA)</i> .....	73
<b>5.6</b>	<b>Discussão</b> .....	<b>75</b>
<b>5.7</b>	<b>Conclusão</b> .....	<b>80</b>
<b>5.8</b>	<b>Referências</b> .....	<b>81</b>
<b>6.</b>	<b>Discussão geral</b> .....	<b>85</b>
<b>7.</b>	<b>Considerações finais</b> .....	<b>89</b>
<b>8.</b>	<b>Conclusão geral</b> .....	<b>90</b>
<b>9.</b>	<b>Referências Bibliográficas</b> .....	<b>91</b>
<b>10.</b>	<b>Anexo – Comprovante de submissão do artigo do capítulo 1</b> .....	<b>101</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil apresenta em seus domínios fitogeográficos a segunda maior cobertura florestal e a maior extensão de floresta tropical do planeta (Ribeiro et al., 2009), possuindo um enorme valor no equilíbrio de diversos ecossistemas globais (Aronson, Durigan e Brancalion, 2011). O papel das florestas tem sido reconhecido fortemente no cenário internacional, especialmente as tropicais, na mitigação à mudança do clima e incorporado nas políticas internas dos países. Sabe-se que as florestas contribuem para o equilíbrio ecológico e para a regulação do ambiente e do clima, mas sua funcionalidade não está restrita somente a esse fato. Por isso, as florestas são de grande importância para o ser humano, garantindo os processos biológicos, e causando diversos benefícios como melhoria na qualidade de vida e o fornecimento de recursos naturais (Scowcroft e Yeh, 2013).

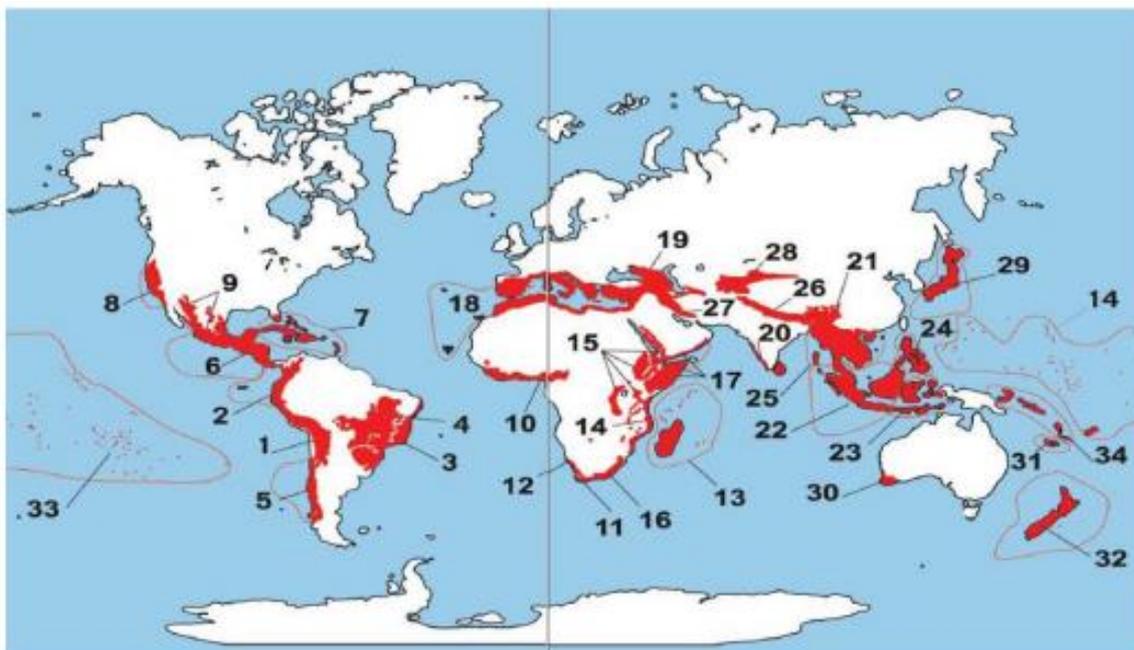
As florestas tropicais localizadas entre os trópicos são conhecidas por sua alta biodiversidade, fator que contribui para a existência de muitos nichos ecológicos (Jirová, Klaudivová e Prach, 2012). O Brasil apresenta duas das maiores florestas em termos dimensionais: a floresta amazônica e a mata atlântica. A primeira se estende pela bacia hidrográfica do Rio Amazonas e está localizada na região norte do Brasil, englobando diversos países. Essa floresta ainda permanece muito preservada, ocupando aproximadamente 80% de toda região norte. A Floresta Amazônica abriga um complexo e diversificado conjunto de formações vegetais denominada floresta amazônica ou floresta equatorial amazônica. A segunda, menor em termos dimensionais é classificada como Mata Atlântica, estabelecendo-se ao longo de toda costa leste do Brasil se estendendo também a oeste, englobando vários estados federativos, mas sua formação vegetal também está presente em grande parte da região litorânea brasileira (Hadley e Betts, 2016).

Originalmente, a floresta Atlântica se estendia do Rio Grande do Norte ao Rio Grande do Sul e cobria uma área de cerca de 1,3 milhões de Km<sup>2</sup>; ou seja, 15% do território nacional, passando por 17 Estados. Sendo a segunda maior floresta tropical úmida em território brasileiro (Fahrig et al., 2019), atualmente é o terceiro bioma em extensão no Brasil, atrás da Amazônia com 4.196.943 Km<sup>2</sup> representando 49,29 %, e do Cerrado com 2.036.448 Km<sup>2</sup> representando 23,92 % do território brasileiro. Em termos de biodiversidade, a mata atlântica possui a segunda maior riqueza de espécies da flora e da fauna brasileira (Fletcher et al., 2018).

Mesmo apresentando alta biodiversidade, contendo aproximadamente 20.000 espécies de plantas com quase 50 % espécies endêmicas e níveis de diversidade igualmente altos para outros grupos biológicos, o bioma Mata Atlântica vem sofrendo inúmeras ameaças e um estado de degradação acentuado. Este fato vem ocorrendo desde o período colonial e grande parte dessa degradação é atribuída a sua localização (Haddad et al., 2015). Estudos recentes apontam que restam aproximadamente entre 11 a 16 % de vegetação original. A maior parte dos remanescentes florestais

deste bioma encontra-se na forma de pequenos fragmentos aleatoriamente distribuídos (Yen et al., 2019) e biologicamente empobrecidos, cuja restauração pode levar centenas de anos. Seus principais remanescentes se encontram concentrados nos Estados das regiões Sul e Sudeste - área hoje habitada por 120 milhões de pessoas – 80 % da população do Brasil, recobrando grande parte da Serra do Mar e da Serra da Mantiqueira. Esta localização dificultou o processo de ocupação pelo relevo acidentado e pouca infraestrutura de transporte. A maior parte da área litorânea que já foi ocupada pela Mata Atlântica concentra as maiores cidades e polos industriais responsáveis por grande parte da economia gerada no País (Haddad et al., 2017).

Contudo, a Mata Atlântica vem apresentando ao longo dos últimos anos altos níveis de fragmentação e destruição, ainda assim, continua sendo uma das florestas mais ricas em biodiversidade. Este bioma é considerado heterogêneo, detendo recordes de diversidade de espécies por hectares jamais vistos em outros biomas. Justamente por apresentar elevados níveis de biodiversidade e estar com grande parte de seu território degradado, a Mata Atlântica é considerada um hotspots mundial (Figura 1), termo ao qual se refere aos biomas que tem prioridade para a conservação da biodiversidade (Silva et al., 2016).



**Figura 1:** Hotspots de Biodiversidade Global. Fonte: Hotspots Revisados – As Regiões Biologicamente Mais Ricas e Ameaçadas do Planeta (Lagos e Muller, 2007). Os números representam os Hotspots mundiais. O número 3 representa a mata atlântica.

Quanto a composição, a Mata Atlântica distingue-se de outros biomas por ser extremamente heterogênea. A floresta estende-se por uma grande área que apresenta zonas climáticas e formações vegetais diversificadas, que vão de tropicais a subtropicais. Diferentemente da maioria das florestas

tropicais espalhadas pelo mundo, a Floresta Atlântica possui um conjunto de variáveis geográficas e climáticas que a tornam singular. Essa diversificação fitofisionômica acaba proporcionando uma variação ambiental, criando as condições adequadas para a evolução de um complexo biótico altamente rico de natureza vegetal e animal (Vasconcelos, 2013).

Atualmente, considera-se que a Mata Atlântica engloba um conjunto de mosaicos florestais e formações de ecossistemas associados que são representados por uma série de 13 tipologias ou unidades fitogeográficas que inclui: Floresta Ombrófila Densa; Floresta Ombrófila Aberta; Floresta Ombrófila Mista - Mata de Araucária, também conhecidas como Pinheiros-do-Paraná; Floresta Estacional Decidual; Floresta Estacional Semidecidual; Formações Pioneiras (Restinga, Manguezal, Campo Salino, vegetação com influencia fluvial ou lacustre); Campos de Altitude, Encraves de Cerrado e, Zonas de tensão ecológica, proporcionando a grande biodiversidade reconhecida para o bioma (Brito et al. 2021).

**Tabela 1:** Fitofisionomias Vegetais inseridas no Domínio da Mata Atlântica.

<b>Fitofisionomias</b>	<b>Extensão em Km2</b>	<b>Porcentagem (%)</b>
1 - Formações Florestais	1.041.998	79,76
1.2- Ombrófila Densa	218.790	16,75
1.3- Ombrófila Aberta	18.740	1,43
1.4 - Ombrófila Mista	168.916	12,93
1.5 - Estacional Semidecidual	486.500	37,23
1.6 - Zonas de Tensão Ecológica	149.052	11,41
2 - Zonas de Tensão Ecológica	157.747	12,07
3 - Enclaves	65.468	5,01
4 - Refúgio Ecológico	103	0,01
5 - Formações Pioneiras	41.105	3,15
<b>Total</b>	<b>1.306.421</b>	<b>100</b>

Fonte: CONAMA 2011.

Dentre essas fitofisionomias, a floresta Ombrófila densa (FOD) se destaca por possuir características nitidamente tropicais, sendo marcada pela ausência de um período seco. A FOD apresenta elevadas taxas de precipitação bem distribuídas ao longo do ano e temperaturas médias acima de 15 °C. Esta floresta é distribuída em uma faixa florestal que acompanha a costa brasileira desde o estado do Rio Grande do Norte até o estado do Rio Grande do Sul, distribuindo-se em um gradiente de altitude que varia do nível do mar até 1.000 m (Simon et al., 2009). A floresta ombrófila densa apresenta diferentes formações, resultantes de interação entre fatores físicos, como diferentes feições geológicas, pedológicas e altitude, interferindo na estrutura das comunidades vegetais (De Almeida et al., 2018). De acordo com Blum e Roderjan (2007), a FOD pode ser subdividida em faixas altimétricas

topográficas, resultando em cinco formações fisionômicas formando ambientes distintos: Aluvial, de terras baixas, submontana, montana e alto-montana.

A FOD de terras baixas ocupam os terrenos quaternários formados por sedimentos arenosos sobre solos podzólicos de drenagem moderada resultantes da erosão das serras costeiras. Trata-se de uma floresta bem desenvolvida com elementos dominantes, formando um dossel denso e homogêneo em torno de 20 a 25 metros de altura. Nos talos próximos às encostas, onde o solo é profundo e rico em matéria orgânica proveniente de deslizamentos, a floresta é ainda mais desenvolvida, com ocorrência de árvores bem desenvolvidas. Contudo, em alguns trechos, esse ecossistema pode sofrer alagamentos permanentes (Shenkin, Chandler e Boyd, 2019).

As planícies inundáveis da FOD de terras baixas resultam em solos arenosos e pobres em nutrientes, apresentando baixa fertilidade. A inundação do solo provoca ainda diminuição da concentração de oxigênio disponível e desta maneira, as raízes perdem seu potencial de aeração, resultando em uma menor absorção de água pelas plantas (Gorgens et al, 2019). Assim, as plantas acabam sofrendo impactos negativos com a menor disseminação interna de oxigênio, resultando em déficit desse gás, passando a planta a habitar em um ambiente hipóxico ou anóxico (Balakhnina, 2018). Plantas presentes nestas áreas tendem a apresentarem porte mais baixo (de 8 a 10m) e disposição mais esparsa (Blanke e Cooke, 2004).

O alagamento permanente causa a privação de oxigênio no sistema radicular das árvores. Como o oxigênio é essencialmente para a respiração mitocondrial, esse processo é prejudicado quando mantido sobre condições de hipoxia ou anoxia. Nestas condições, as plantas acabam por desenvolver mecanismos estratégicos de combate a estresses. Para as plantas, essa situação imposta pelo ambiente acaba transformando-se em uma questão de sobrevivência (Balakhnina et al., 2010). Ademais, a baixa dissipação de oxigênio compromete o metabolismo energético e baixar a produção de energia (ATP). De acordo com Wright e colaboradores (2016), as plantas presentes em planícies inundáveis tendem a apresentarem um declínio nas taxas de fotossíntese e transpiração, bem como, na condutância estomática. Supõe-se que, devido ao transporte reduzido do floema, açúcares solúveis e amido se acumulam nas folhas das árvores inundadas, afetando negativamente o suprimento de açúcar das raízes.

Assim, a inundação permanente do solo acaba impondo uma característica altamente seletiva ao ambiente, sendo a condição de encharcamento dos solos um dos principais fatores abióticos seletivos a ocorrência das espécies vegetais. Desta forma, as espécies tendem a aclimatar, contornando ou evitando problemas causados pela perda parcial ou total de oxigênio (Violle et al., 2010).

De acordo com Rosado e Mattos (2007), a aclimação são alterações nas características morfoanatômicas e/ou fisiológicas das plantas, impostas pelo ambiente, e o desenvolvimentos dessas

alterações se torna um fator preponderante para o desenvolvimento e sucesso das espécies vegetais. Desta maneira, os organismos desenvolvem mecanismos específicos de resposta ao ambiente, resultando em estratégias aclimatativas altamente específicas (Armbruster et al., 2009).

Deste modo, o conjunto dessas modificações aclimatativas é chamado de plasticidade fenotípica (Van Buskirk e Steiner, 2009). Para Thilbert e Hendry (2011), a plasticidade fenotípica está diretamente relacionada a capacidade do genótipo de reconhecer e expressar novas características fenotípicas, e quanto mais plásticos forem os atributos maior a capacidade das plantas em se ajustarem ao ambiente. Desta maneira, plantas que apresentam uma maior plasticidade fenotípica tendem a serem mais aptas a co-ocorrerem em diversos ambientes. Assim, frente as condições estressantes do ambiente como a falta de oxigênio e o déficit de nutrientes, as plantas podem induzir inúmeras alterações fenotípicas em seus atributos (Peterson e Kay, 2014). Entretanto, Violle e co-autores (2007) relatam que as plantas podem variar alguns atributos em conjunto como respostas a dado tipo de estresse. Desta maneira, os atributos podem se “combinar” e variarem ao mesmo tempo, apresentando correlações multivariadas em um mesmo sentido; ou seja, em uma mesma direção. Alguns ecologistas de plantas mostram que o funcionamento adequando de alguns fenótipos requer vários traços que trabalham simultaneamente juntos, resultando em uma integração fenotípica (Armbruster et al., 2009). Em termos gerais, a integração fenotípica é definida como a correlação fenotípica estrutural de múltiplos caracteres, e as plantas podem ao mesmo modo variar um dado atributo (plasticidade fenotípica), ou integrar uma gama de variações em atributos específicos (integração fenotípica) (Hermant et al., 2013).

Nesse sentido, a compreensão de mecanismos aclimatativos morfoanatômicos do lenho e das folhas se torna uma ferramenta de levantamento de dados, visando compreender quais são as estratégias desempenhadas pelas plantas para colonizarem áreas alagadas. O estudo das espécies vegetais presentes em área alagada e a compreensão da estruturação e formação da fitofisionomia é sem dúvida uma ótima forma de obtenção e levantamento de informações relevantes a respeito da dinâmica ecológica e de funcionamento desse ecossistema (López-Ráez, Shirasu e Foo, 2017). Além disso, a compreensão prévia e detalhada desses atributos funcionais pode aumentar a probabilidade de sucesso em ações de restauração ecológicas de áreas alagadas, e no reestabelecimento de processos ecológicos e edáficos, com a finalidade de reestruturar, conservar e permitir a manutenção dos serviços neste ecossistema (Colautti e Barrett, 2013).

Baseado nessa premissa, o presente trabalho busca identificar os principais atributos funcionais (morfológicos, anatômicos e fisiológicos), que permitiram com que espécies de FOD de área alagada se estabelecessem e conseqüentemente colonizassem este ambiente hipóxico. Nesse sentido, é importante compreender como as plantas respondem ao alagamento. Com base nessa

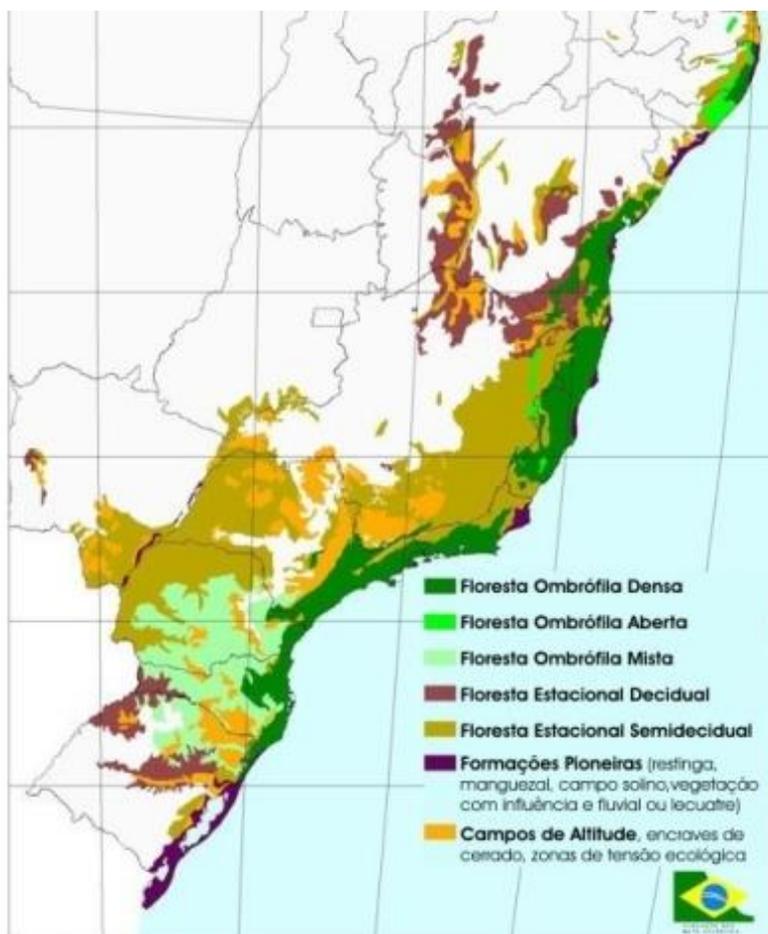
afirmação, o presente trabalho apresenta os seguintes questionamentos: (1) Quais atributos funcionais morfoanatômicos e fisiológicos permitiram com que as espécies fossem aclimatadas as condições de alagamento? (2) A aclimatação das espécies as condições de alagamento é espécie-específico ou existe um padrão de respostas direcionadas pelo ambiente? (3) A aclimatação ao alagamento é mediada por processos de integração ou plasticidade fenotípica? Desta maneira, a identificação prévia e detalhada das características funcionais analisadas fornece uma ampliação de informações acerca de mecanismos estratégicos de espécies vegetais tolerantes às áreas alagadas, sendo informações preponderantes no manuseio e adequações de previsões de serviços ambientais em áreas potencialmente alagadas.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1 Mata Atlântica**

As formações florestais desempenham importantes funções sociais, econômicas e ambientais (Fahrig et al., 2019). Cerca de 61 % do território nacional é coberto por vegetação nativa, distribuída nos vários biomas encontrados no território brasileiro. Cada um destes biomas possui características particulares, englobando desde áreas de campos naturais a florestas densas, sendo consideradas regiões ricas em biodiversidade (Ferrante e Fearnside, 2019).

A Mata Atlântica é um Bioma formado por um conjunto de formações florestais e ecossistemas associados como as restingas, os manguezais e os campos de altitude. Devido a sua grande extensão, a Mata Atlântica apresenta extensas variações latitudinais e longitudinais, que podem influenciar tanto nos tipos de clima, quanto nos regimes pluviométricos (Magnago et al., 2015). Essas características geográficas, assim como fatores atitudinais, explicam o fato da Mata Atlântica não ser uma formação vegetacional homogênea, apresentando várias fitofisionomias, tais como: Florestas Ombrófilas Densa, Ombrófilas Mista (Mata de Araucária), Estacional Semidecidual e Estacional Decidual, além de ecossistemas associados como manguezais, restingas, campos de altitudes (Lion et al., 2016), (Figura 2).



**Figura 2:** Mapa da distribuição das fitofisionomias da Mata Atlântica. (SOS Mata Atlântica 2019).

Essa heterogeneidade da Mata Atlântica são características e promovem a ocorrência de uma grande variedade de espécies, sendo este bioma um dos maiores em níveis de biodiversidade e endemismo do mundo (WWF, 2017). Mesmo apresentando esse alto grau de endemismo e biodiversidade, este bioma vem sofrendo níveis altos de degradação. Atualmente é um bioma classificado como ponto de fragmentação e de desmatamento altíssimo, sendo incluso entre os 34 “*hotspots*” mundiais (Santos et al., 2018).

No estado do Rio de Janeiro, a Mata Atlântica apresenta atualmente 30,7 %, cerca de 1,3 milhão de hectares, de sua formação original, sendo 10 % (435.540 ha) de vegetação natural, 18,6 % (814.563 ha) de remanescentes florestais, 0,3 % (11.895 ha) de mangues, e 1,2% (52.299 ha) de restingas. Os outros 0,6% (26.549 ha) correspondem a áreas naturais não florestais (Magnago et al., 2015). Desta maneira é possível estimar que este bioma apresenta um alto de risco de desaparecer e perder totalmente sua composição vegetal (Vieira et al., 2009).

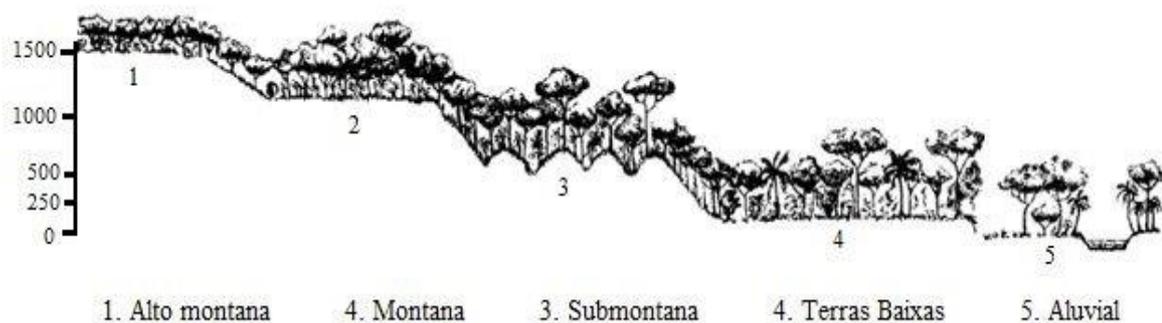
As FODs necessitam de atenção redobrada, por apresentar um alto potencial extrativo, e perda de grandes trechos ao longo dos anos. Neste sentido, é preciso incentivar práticas de conservação e manejo para que este importante ecossistema não seja devastado com o passar dos anos (Vasconcelos et al., 2019).

## 2.2 Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas

O termo floresta ombrófila densa foi criado por Ellenberg e Mueller-Dombois (1967) para designar a expressão “amigo das chuvas”, pelo fato destas chuvas ocorrerem periodicamente. Esse tipo de vegetação é caracterizada por apresentar tipo de vegetação com fanerófitos-subformas (IBGE, 2012).

Este tipo de formação vegetacional é encontrada sob climas com precipitações pluviométricas superiores a 1.500 mm, até 4.000 mm, com no máximo dois meses de seca, e até 35 % das chuvas concentradas em três meses, temperaturas médias anuais de 20 °C a 24 °C, variando entre temperaturas absolutas de 12 °C e 38 °C (BFG, 2015). Quanto a composição arbórea, a FOD é caracterizada por apresentar árvores bem desenvolvidas de portes bem altos e folhas largas. As folhas de algumas espécies comumente apresentam um tipo de sulco nas pontas para facilitar a drenagem da água. Outro tipo de adaptação encontrado é a presença de muitas árvores com raízes de suporte, adaptadas para a fixação sobre condições topográficas instáveis (Matsuda, 2011).

Contudo, o desenvolvimento da vegetação e da fitofisionomia estão relacionados a vários fatores, como, disponibilidade de água, de nutrientes e de relevo (Esser, Neves e Jarenkow, 2019). Essas variantes subdividem a floresta ombrófila densa em cinco formações, ordenadas de acordo com sua hierarquia topográfica, condicionando diferentes fitofisionomias de acordo com as variações das faixas altimétricas. Sendo assim, para cada 100 m de altitude, as temperaturas diminuem 1 °C, a umidade é alterada e a disponibilidade de nutrientes e do oxigênio no solo são alteradas (Murray-Smith et al., 2009), classificando esse tipo vegetacional em: Formação Aluvial, formação das terras baixas, formação submontana, formação montana, formação altomontana (Veloza et al., 1991).



**Figura 3:** Subdivisão em faixas Altimétricas da Floresta Floresta Ombrófila Densa. (Veloza, Rangel Filho e Lima, 1991).

Desta maneira, cada perfil fitofisionômico se torna uma especificação da FOD, sendo estes caracterizados e classificados da seguinte maneira: FOD alto montana (acima de 1.500 m) – Ocorre

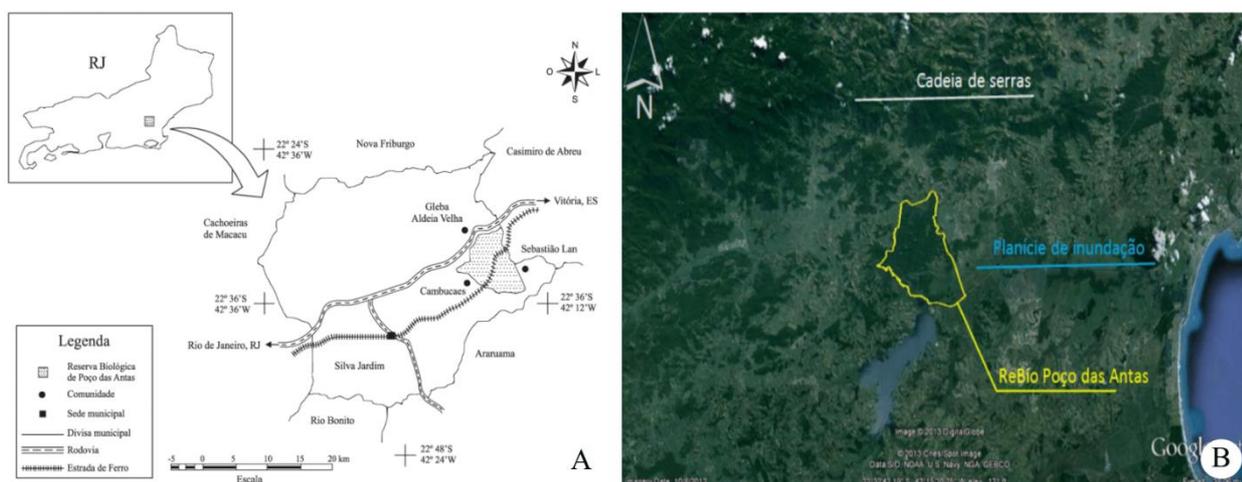
em regiões serranas, onde a vegetação praticamente deixa de ser arbórea, pois predominam os campos de altitude; FOD Montana (Entre 500 – 1.500 m) – recobre a encosta das regiões serranas; FOD Submontana (Entre 50 – 500 m) – Presente na parte serrana inferior; FOD de Terras Baixas (Entre 5 – 50 m) – Parte ao qual se encontra grandes planícies; FOD Aluvial (Até 5 m) – Local que esta quase sempre associado a corpos hídricos (Almeida-Neto et al., 2008).

A floresta ombrófila densa de terras baixas (Figura 3 “4”) é uma formação que, em geral, ocupa as planícies costeiras. Esta formação ocorre desde a Amazônia, estendendo-se por toda a Região Nordeste até o Rio de Janeiro. Tais tabuleiros apresentam uma florística bastante típica, caracterizada por diversos ecótipos (Tabarelli, Vicente e Barbosa, 2003). Assim, a partir do Rio São João (RJ), em direção ao sul, esta formação ocorre nos terrenos quaternários situados em geral pouco acima do nível do mar, nas planícies formadas pelo assoreamento devido à erosão existente nas serras costeiras, e nas enseadas marítimas (Chazdon et al., 2006).

A Reserva Biológica de Poço das Antas (RBPA) apresenta uma porção de floresta sendo classificada como floresta ombrófila densa de Terras Baixas, sendo um tipo de vegetação situada em baixadas úmidas, e até mesmo em áreas alagadas. Esta vegetação é influenciada por ações antrópicas e pelo alagamento (Guedes-Bruni et al., 2006).

### **2.3 Reserva Biológica de Poço das Antas**

O estudo foi realizado na RBPA foi criada em 1974, por meio do Decreto Federal nº 73.791 de 11/03/1974, e no ano seguinte foi redelimitada pelo Decreto nº 76.534 de 03/11/1975. A Reserva está localizada no município de Silva Jardim, Estado do Rio de Janeiro, inserida na região da baixada litorânea do nordeste fluminense entre as coordenadas 22°30' e 22°33' S; 42°15' e 42°19' W (Oliveira, 2012). A RBPA apresenta uma área total de aproximadamente 5.000 ha, sendo limítrofe com o rio São João e a Represa de Juturnaíba, se estendendo ao norte até a rodovia BR-101.



**Figura 4:** Características gerais da Reserva Biológica Poço das Antas (RBPA). A – Mapa do estado do Rio de Janeiro demonstrando a localização da REBIO. B – Imagem de satélite mostrando a RBPA e a planície de inundação. Fonte: Google Earth.

A Reserva Biológica de Poço das Antas apresenta um aspecto fitofisionômico muito empobrecido quando comparado a sua cobertura vegetal primitiva vegetação (Lima et al., 2006). As ações antrópicas como, extração de madeiras, drenagem artificial, retificação dos rios e principalmente as queimadas, são processos que contribuem para o desaparecimento de trechos abrangentes de formações florestais, sobretudo nas planícies de inundação (Pessoa e Oliveira, 2006). Na década de 70 foram feitos mapeamentos e análises dos aspectos florísticos, que comprovaram a presença de características de uma vegetação secundária na cobertura vegetal da área, classificada como floresta pluvial (Guedes-Bruni et al., 2006). Na Reserva são encontradas áreas de várzeas temporária ou permanentemente inundadas, onde predominam neossolos flúvicos, e morrotes com altitude de até 200 metros, onde predominam Argissolos (Moraes et al., 2006). Na RBPA São encontrados unidades geomorfológicas colinas e maciços costeiros caracterizados por topografia deprimida com reduzidos valores altimétricos (Neves e Peixoto, 2008). Assim, torna-se imperativa a atualização de dados sobre essa unidade de conservação, prioritariamente em relação a sua natureza e extensão. Sendo essas informações imprescindíveis na tomada de ações de restauração ecológica de áreas degradadas (Cardoso-Leite et al., 2005).

Por apresentar uma topografia baixa, trechos alarmantes da reserva estão sujeitos a inundações permanentes. As alterações provocadas pelo alagamento acabam por condicionar risco à estabilização de muitas espécies vegetais, o desenvolvimento e o crescimento vegetacional nessas áreas. Nesta área se forma um gradiente crescente de diversidade biológica, resultante de estresses relacionados ao grau e intensidade de encharcamento do solo. Assim, essa área compõe um mosaico fino de manchas de diferentes biomas, ampliando e diversificando a vegetação destas paisagens (Souza e Martins, 2004).

O alagamento torna o ambiente estressante ao ponto de vista habitacional, contudo várias espécies vegetais conseguiram obter êxito no estabelecimento e colonização destas áreas. Para isso, essas espécies desenvolveram algum grau de plasticidade em seus atributos morfoanatomicos e fisiológicos (Lande, 2015).

## **2.4 Respostas adaptativas**

As plantas sofrem um série de variações quanto aos seus atributos morfoanatomicos e fisiológicos. Essas mudanças ocorrem porque os organismos de uma mesma espécie não são capazes de sobreviver e competir com sucesso em uma faixa muito ampla de condições de ambiente. Assim sendo, essas mudanças são características do resultado do processo evolutivo conhecido como estratégias ou adaptações (Colautti e Barrett, 2013).

Adaptação é um conjunto de modificações provocadas na constituição de um organismo como resultado da ação contínua de um meio diferente daquele em que inicialmente se desenvolveu seus ascendentes (Vandepitte, De Meyer e Helsen, 2014). Fatores morfogênicos são os que influenciam e formam as estruturas das plantas, sendo as condições de clima e de solo responsáveis por determinar ou modificar a organização vegetal. Em cada ser vivo existe um padrão de desenvolvimento estabelecido e comandado pelo seu patrimônio genético (genótipo), contudo os fatores abióticos agem sobre os genes e modificam sua expressão em vários sentidos fazendo estes adquirirem uma plasticidade fenotípica (Van Buskirk e Steiner, 2009).

Plasticidade fenotípica é definida como mudanças que ocorrem em um organismo em relação as condições ambientais. Essas mudanças podem ocorrer em vários níveis, contudo são extremamente importantes para as plantas em razão destas apresentarem seu modo de vida sésil (Thilbert e Hendry, 2011). Essas modificações podem se apresentar em características morfológicas, em que ocorrem mudanças estruturais, e fisiológicas, sendo responsáveis pelos ajustes dos organismos aos diferentes ambientes (Scarano e Ceotto, 2015). A plasticidade fenotípica não necessariamente implica apenas em adaptações. Estas alterações de características podem ter resultados negativos também para o indivíduo. Além disso, as adaptações podem envolver partes vegetativas e/ou reprodutivas de uma planta (Pfennig et al., 2010).

Diversos estudos têm analisado a plasticidade fenotípica de plantas em relação a diferentes fatores ambientais (Valladares et al., 2000). Tais respostas apresentam importante papel na sobrevivência e no crescimento das plantas em ambientes heterogêneos e variáveis das florestas tropicais (Valladares et al., 2006).

## 2.5 Adaptações estruturais e fisiológicas ao alagamento

As plantas podem responder de diversas maneiras as variações ambientais, alterando suas características morfoanatômicas e/ou fisiológicas. Essas mudanças ocorrem porque o ambiente sofre alterações, e estas modificações acabam sendo fatores limitantes para o desenvolvimento e sucesso dos organismos (Peterson e Kay, 2014). Desta forma, define-se aclimatação como o conjunto de modificações provocadas na constituição de um organismo como resultado da ação contínua de um meio diferente daquele que se desenvolveu. Deste modo, cada ser vivo responde de uma maneira específica em detrimento as alterações nos ecossistemas, e essa resposta é conhecida como plasticidade fenotípica (Mostofa et al., 2018). Neste sentido, aclimatação refere-se à amplitude de respostas possíveis dentro de um mesmo genótipo (López-Ráez, Shirasu e Foo, 2017).

O estudo das características aclimatativas visa identificar a relação entre os organismos em detrimentos aos diferentes fatores ambientais, apresentando importante papel na sobrevivência e no crescimento destas nos diferentes ambientes heterogêneos, sejam eles, secos, intermediários e alagados (Valladares et al., 2000; 2006). Neste sentido, ambientes onde o solo é alagado, a diminuição das trocas gasosas entre o solo e a atmosfera é um fator preponderante no desenvolvimento das espécies (Lande, 2015). A água em excesso no solo também pode provocar modificações na forma e na estrutura das plantas (Suzuki et al., 2014). A concentração interna de O<sub>2</sub> nas plantas decresce drasticamente sob a condição de anoxia. Sendo assim, plantas que conseguem colonizar ambientes sujeitos ao alagamento, necessitam desenvolver uma série de estruturas que propiciam a tolerância envolvendo respostas a esse tipo de estresse (Cavallero, López e Barberis, 2009).

Uma característica comum que se modifica nas plantas sobre condições de alagamento é a densidade estomática e o tamanho dos estômatos. O número de estômatos se torna maior em plantas submetidas à baixa disponibilidade de água. Ao passo que, em plantas com alta disponibilidade hídrica a densidade de estômatos tende a ser menor, assim como o tamanho destes estômatos (Murphy et al., 2016).

Os fatores ambientais também podem afetar as dimensões dos elementos de vasos (Callado et al., 2001). Geralmente quando a planta está sujeita a ambiente com baixa disponibilidade hídrica, ocorre a diminuição do diâmetro dos elementos de vasos. Este fato ocorre para garantir um aumento na segurança do transporte, uma vez que o estreitamento dos vasos mantém a coluna de água em alta tensão (He et al., 2021).

O mesofilo em plantas sujeitas ao alagamento pode apresentar-se maior quando comparados com plantas em áreas não alagadas. Este ajuste pode estar associado à ação do etileno produzido em condições de baixas concentrações de oxigênio. Geralmente plantas submetidas ao alagamento, apresentavam espaços intercelulares (aeração) progressivamente mais amplos, resultando em um

maior espessamento do parênquima lacunoso (Salgado et al., 2015). Além disso, o aerênquima é uma especialização do tecido parenquimático que se desenvolve em forma de grandes espaços intercelulares preenchidos por gases. A ação do etileno provoca a indução de enzimas que atuam no metabolismo da parede celular, formando aerênquimas (Brodribb et al., 2010).

## **2.6 Variações intraespecífica de plantas em resposta ao alagamento**

Com a premissa de compreender melhor as implicações ecológicas da variabilidade funcional intraespecífica (VFI) e deste modo levantar dados e construir conhecimentos sobre os ecossistemas, muitos estudos no âmbito de estruturação e dinâmica de comunidades vêm sendo desenvolvidos (Boucher et al., 2013). Desta maneira, a variabilidade fenotípica intraespecífica emergiu como um tópico importante no campo da ecologia da comunidade vegetal, apontando o produto da variabilidade genética e da plasticidade fenotípica (Albert et al., 2010).

Segundo Hermant e coautores (2013), vários estudos têm mostrado que, ao contrário das expectativas anteriores, os atributos funcionais das plantas variam entre indivíduos da mesma espécie. Estes atributos estão correlacionados com os gradientes ambientais, e podem divergir entre espécies sujeitas a mesma pressão ambiental. Seguindo a linha da perspectiva funcional, as variações funcionais podem ser expressas em três propriedades: Extensão, Forma e Direção. A Extensão é a variação total do fenótipo; a Forma é o grau de correlação entre as características do fenótipo (integração fenotípica) e; a Direção é o sentido resultante dessas correlações (Violle et al., 2007). Desta forma, a importância da variabilidade funcional intraespecífica está associada a sua estreita relação com o nicho ecológico das espécies, e a contabilização desta variabilidade é crucial para responder várias perguntas em ecologia vegetal (Violle e Jiang, 2009).

Neste trabalho, o termo "variabilidade funcional" (VF) se refere ao conjunto de variações em múltiplos atributos funcionalmente relacionados; ou seja, variâncias de atributo único. E o padrão de covariação entre estes atributos é conhecido como integração fenotípica (Armbruster et al., 2009).

As variações das características funcionais da folha e do lenho são fundamentais na identificação de divergências entre populações intraespecíficas e interespecíficas, pois, são atributos bastante variáveis e informativos (Messier et al., 2010). As variações desses atributos podem ser relacionados com as diferentes formas de uso de recursos de plantas, identificando desta forma quais são as estratégias utilizadas para contornar o estresse a qual estão submetidas (Almeida et al., 2013).

Alguns atributos foliares como a Área Foliar (AF) e a demanda de carbono na construção de tecidos do mesófilo (LMA) têm sido considerados chave de identificação destas estratégias (Salgado-Negret et al., 2015). Menores valores de AF podem estar relacionado com economia hídrica, mas também pode refletir problemas na biossíntese e na partição de carbono; já plantas com alto valores

de LMA podem estar dispendo-se de uma estratégia e otimizando o armazenamento de nutrientes (Weijschedé et al., 2006). Em relação a estrutura do lenho, dimensões dos elementos de vasos também são cruciais na identificação deste atributos. Geralmente quando a planta está sujeita a ambiente com baixa disponibilidade hídrica, ocorre a diminuição do diâmetro dos elementos de vasos (Boucher et al., 2013).

Logo, as características funcionais morfoanatômicas da folha e do lenho são ferramentas bastantes úteis para identificar as distintas “estratégias” de uso de recursos pelas plantas (Farjado e Piper, 2010). Ecossistemas submetidos ao alagamento permanente são especialmente interessantes do ponto de vista de processos ecológicos e evolutivos, pois são regiões limitantes a colonização de espécies vegetais, e as que habitam nestas localidades apresentam-se praticamente desconectadas, formando comunidades isoladas (Weldegergis et al., 2018). Halcritter e coautores (2015) relatam que nestas regiões o processo dispersional é baixo e sugerem que o fluxo gênico entre as espécies também seja baixo. Os processos biogeográficos e locais aos quais este tipo de ambiente está sujeito podem promover a diferenciação de populações de uma mesma espécie. E como o passar de longos períodos de tempo, as linhagem podem se separar e novas espécies podem surgir. Esta diferenciação provavelmente se dá como resultado de pressões do isolamento e da heterogeneidade de condições ambientais sobre a variabilidade funcional intraespecífica (Barros et al., 2015).

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Caracterizar os aspectos estruturais e ecofisiológicos da lâmina foliar e analisar os atributos anatômicos do lenho de plantas ocorrentes em floresta ombrófila densa de terras baixas em alagamento permanente, visando investigar os mecanismos aclimatativos que tornaram possível com que essas espécies sobrevivam ao alagamento e quais estratégias as espécies desenvolveram para contornar as dificuldades advindas do ambiente anóxico.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- Caracterizar os aspectos anatômicos do sistema de revestimento, fundamental, e vascular lâmina foliar das espécies selecionadas.
- Avaliar os parâmetros morfológicos, relacionados à massa foliar por unidade de área (MFA), suculência (SUC), densidade (DEN) e área foliar (AF) das folhas;
- Avaliar alterações ultraestruturais nos cloroplastos em virtude das condições de alagamento;
- Determinar o conteúdo de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenóides
- Analisar a eficiência fotoquímica do fotossistema II (PSII) a partir da emissão de fluorescência da clorofila *a*;
- Relacionar os aspectos estruturais e ecofisiológicos da lâmina foliar como resposta adaptativa às estratégias de sobrevivência das espécies.
- Avaliar o índice de plasticidade fenotípica e de integração fenotípica foliares para compreender como essas espécies se ajustaram e se tornaram aptas para se esbaterem no ambiente alagado.
- Analisar as características anatômicas do lenho com o intuito de detectar estratégias adaptativas utilizada na condução de água;
- Analisar comparativamente os atributos anatômicos da madeira das espécies arbóreas
- Identificar os estresses impostos pelo alagamento, relacionando com características anatômicas da madeira nas espécies

A presente tese foi dividida em dois capítulos e estes serão destinados à publicação de dois artigos:

**Capítulo 1.** Variabilidade funcional dos atributos morfoanatômicos e fisiológicos das folhas de espécies nativas em uma Floresta Tropical alagada  
Este trabalho foi submetido à a Trees - Structure and Function e ainda esta sob avaliação (Anexo 1)

**Capítulo 2.** Variação intraespecífica na anatomia da madeira de espécies arbóreas ocorrentes em áreas alagadas da Mata Atlântica  
Este trabalho está em fase finalização para submissão ao IAWA Journal

#### 4. CAPÍTULO 1: VARIABILIDADE FUNCIONAL DOS ATRIBUTOS MORFOANATÔMICOS E FISIOLÓGICOS DAS FOLHAS DE ESPÉCIES NATIVAS EM UMA FLORESTA TROPICAL ALAGADA

*The functional variability of the morphoanatomical and physiological traits of native species leaves in a flooded tropical forest*

**Key Message:** The species did not show a response pattern to flooding. *Andira anthelmia* and *Vernonanthura discolor* invested in plastic responses, while *Guarea guidonia* established a balance between integration and phenotypic plasticity.

##### 4.1 Abstract:

Dense Ombrophilous Forests are tropical phytophysiognomies that make up the vegetation mosaic of the Brazilian Atlantic Forest. These forests occur in humid regions and often contain flooded areas that impose obstacles to plant colonization. Some species such as *Guarea guidonia* (Meliaceae), *Andira anthelmia* (Fabaceae), and *Vernonanthura discolor* (Asteraceae) can tolerate these flooding conditions. However, little is known about the acclimatization of these species to flooding. For this reason, morphoanatomical and physiological analyses were performed on the leaves of five individuals of each species selected from a flooded and non-flooded area. The results showed that species presented thicker leaves and higher specific leaf mass values under flooding conditions. However, it was observed that the thickening of *G. guidonia* and *V. discolor* is mainly influenced by the palisade parenchyma thickness, while in *A. anthelmia*, thickening was more closely related to the spongy parenchyma thickness. Greater thickening of the cuticle and epidermis and greater stomata density were also observed in the flooded areas. The chlorophyll *a* and *b* and carotenoid contents were significantly lower in the flooded areas. Chloroplasts exhibited higher amounts of starch grain, lipid drops, and plastoglobules in the flooded areas. Regarding the quantum yield of photosystems II, only *A. anthelmia* showed a reduction in  $F_v/F_m$  values in the flooded area. Plasticity and phenotypic integration analyses made it possible to conclude that the acclimatization of *A. anthelmia* and *V. discolor* was mainly mediated by plastic adjustments. At the same time, *G. guidonia* presented greater phenotypic integration.

**Keywords:** Flooding, Phenotypic Plasticity, Phenotypic Integration, Morphoanatomy, Chloroplast Ultrastructure, Chlorophyll *a* Fluorescence

## 4.2 Introduction

Dense Ombrophilous Forest, a phytophysognomy of the Atlantic Forest, can present considerable water accumulation in soils, resulting in large flooded areas (Esser et al. 2019) that create obstacles to the colonization of plants in this environment (Murray-Smith et al. 2009). When the soil becomes saturated with water, the concentrations of available oxygen decrease due to water diffusion problems. Therefore, the roots are insufficiently aerated, resulting in less water uptake by plants (Cardoso-Leite et al. 2005). Thus, the soil presents a reducing atmosphere caused by flooding, and spaces previously occupied by air are filled with water (Atwell 2014). Therefore, there is a deficit of oxygen for respiratory processes, and plants are subjected to hypoxic or anoxic environments (Oliveira and Gualtieri 2017). Because the flooding process puts pressure on plants, to varying degrees and of unpredictable duration, the more acclimated species avoid hypoxia by developing strategic coping mechanisms (Scremin-Dias et al. 2011).

Plants living in environments with saturated soil, resource suppression, and total or partial lack of oxygen, for example, experience morphofunctional trait alterations, and the number of significant correlations between the characteristics increases with the intensity of environmental stress (Agrawal and Stinchcombe 2009). Moreover, plants' ability to alter their structural and physiological traits in response to environmental conditions is defined as phenotypic plasticity (Gratani 2014). Plasticity is how sessile organisms deal with ecological heterogeneity (Sultan 2000). This ability affects their adaptability and triggers a series of changes leading to adaptive divergence and allowing for evolution and speciation (Pigliucci 2003; Valladares et al. 2014). In contrast, phenotypic integration refers to the pattern of correlations between functional traits (Pigliucci 2003; Sánchez-Gómez et al. 2008). Gianoli and Palacio (2009) have asserted that phenotypic integration restricts phenotypic plasticity, as the more a trait is linked to other characteristics, the more limited its degree of variation. However, some studies have shown that the relationship between plasticity and phenotypic integration is not always antagonistic, especially in stressful environments that require more responsive phenotypes (Zimmermann et al. 2016; Matesanz et al. 2021).

In this sense, it is possible to state that species must develop strategies to survive the stressful conditions of their local environments and do so to a certain degree through plasticity with respect to their structural and/or physiological characteristics

(Simon 2010). Moreover, responses to flooding can vary greatly according to species, their genetic makeup, and the duration of flooding (Weldegergis et al. 2018). Especially during the early stages of development, the growth of tree species is adversely affected by soil flooding in as little as a few weeks. Leaf characteristics undergo sudden changes, such as changes in pigment concentrations and consequently the rate of CO<sub>2</sub> assimilation. In addition, these changes can vary from species to species (Oliveira and Gualtieri 2017).

Thus, morphoanatomical and physiological studies offer insight into the acclimatization strategies of plants by fostering the collection of data for different species in response to flooding and the colonization of species in hypoxic environments. In this sense, it is essential to understand how plants respond to flooding. Based on this statement, this study presents the following questions: (1) What morphoanatomical and physiological functional traits have allowed species to become acclimated to flooding conditions? (2) Is the acclimatization of species to flooding conditions species-specific, or is there a pattern of responses driven by the environment? (3) Is flood acclimation mediated by integration processes of phenotypic plasticity? Thus, the detailed identification of the analyzed functional characteristics provides information about the strategic mechanisms of plant species that are tolerant to flooded areas and is highly relevant information for effective management and planning regarding environmental services in potentially flooded areas.

## **4.3 Material and methods**

### **4.3.1 Study area**

The study was carried out in the Reserva Biológica de Poço das Antas (RBPA) (22°33`S and 42°19`W), located in the coastal lowlands of Rio de Janeiro, Silva Jardim, under the direct influence of the hydrographic basin of the São João River (Lima et al. 2006) (Supplementary Figure 1). The vegetation of RBPA has been characterized as secondary vegetation with agricultural activity and represents a stretch of dense ombrophilous forest (Veloso and Goes-Filho 1982; IBGE 1992). The RBPA is fragmented and represents a significant forest remnant in the state lowlands. It presents typical plant physiognomy and is the habitat of the golden lion tamarin (*Leontopithecus rosalia* L.), an endangered species (Guedes-Bruni 2006). The climate is humid megathermal with a potential evapotranspiration index greater than 1.140 mm, relative humidity of 51.5 %, and an aridity index (AI) of 0.072; it

corresponds to the Köppen tropical rainy designation (Alvares et al. 2013). The study was carried out in the lowland forest, in two areas: non-flooded and flooded. Approximately 30 meters of forest separate these two areas (Supplementary Figure 1 and Table 1).

**Table 1:** Characterization of environmental conditions between non-flooded and flooded areas.

<b>Microclimatic Data</b>	<b>Unflooded</b>	<b>Flooded</b>
Mean Irradiance ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	$53.5 \pm 12.8$	$80.4 \pm 50.9$
Temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	$29.8 \pm 6.5$	$30.1 \pm 7.7$
Humidity (%)	$57.5 \pm 24.0$	$58.2 \pm 16.5$

Values were obtained at 1.30 m from the ground in each cardinal direction around the individuals between 11:30 am and 12:00 pm. A thermohygrometer (HT-30, Instrutherm, Brazil) was used to measure temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ) and humidity (%); a radiometer (LI-250A, Li-Cor Inc., USA) was used to measure irradiance ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

#### **4.3.2 Species selection and analysis period**

The selected species are included in the inventories compiled by Guedes-Bruni (2006) and in the database of the Mata Atlântica program/Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. The three selected species, which co-occurred in the flooded and non-flooded areas, were: 1. *Guarea guidonia*(L.) Sleumer (Meliaceae) – wood plant, average height = 4 meters flooded and 6 meters non-flooded, DBH = 55 centimeters flooded and 70 centimeters non-flooded; *Andira anthelmia* (Vell.) Benth. (Fabaceae) – wood plant, average height = 5 meters flooded and 7 meters non-flooded, DBH = 50 centimeters flooded and 65 centimeters non-flooded; *Vernonanthura discolor* (Spreng.) H. Rob. (Asteraceae) – wood plant, average height = 6 meters flooded and 8 meters non-flooded, DBH = 58 centimeters flooded and 63 centimeters non-flooded. These species are characterized by a wide geographic distribution (Flores 2020), are endemic to Brazil, and can be found in different regions. They are species of great importance from an ecological and economic point of view.

Five individuals of each species were selected per area, and five fully developed leaves from the third node located in the upper portion of the canopy were collected. Analyses were performed during the dry period (winter), between June and June 2019.

#### ***4.3.3 Measurement of leaflet morphological parameters***

Samples of 0.5 cm in diameter were taken from the middle third of the leaves and hydrated for 24 h for the subsequent determination of saturated mass with a digital scale (0.001g) (AY220, Shimadzu) and of thickness (THIC) with a digital caliper (0.001 ± mm) (Stainless, Hardened, Canada). Hydrated samples were placed in an oven at 55 °C for 72 h to obtain the dry mass. Succulence (SUC gm<sup>-2</sup>) was calculated based on the difference between saturated and dry mass divided by the sample area. Specific leaf mass (LSM gm<sup>-2</sup>) was determined by dividing the dry mass by the sample area (Kluge and Ting 1978). Leaf density (DEN mg mm<sup>-3</sup>) was obtained by the formula: DEN = SLM/THIC (Witkowski and Lamont 1991). Twenty-five leaves were used to determine the leaf area (LA, cm<sup>2</sup>) from each area (flooded and non-flooded) and were scanned and measured using the Image J digital image processing system.

#### ***4.3.4 Measurement of leaf anatomical traits***

Cuticle and epidermis, palisade parenchyma, spongy parenchyma, and leaf mesophyll thickness (µm) were calculated from cross-sections of the median third of the leaf blade. Twenty-five fields were examined for each analyzed leaf. The images obtained were processed and analyzed using the Image Pro - Plus digital image processing system (Media Cybernetics, Inc.). The density (mm<sup>2</sup>), length (µm), width (µm), and area (µm) of the stomata per unit of leaf area were determined by observing the dissociated epidermis in a light microscope (Axioplan, ZEISS, Germany) coupled with the image capture system (Moticam Pro 282B, Hong Kong). Eighty images from a square millimeter field were processed and analyzed using the Image Pro-Plus digital image processing system (Media Cybernetics, Inc.).

#### ***4.3.5 Anatomical analysis***

Fragments of the middle third leaf blades were fixed in an aqueous solution of 2.5% glutaraldehyde, 4% formaldehyde, and 0.05 M Sodium cacodylate buffer at pH 7.2 (Karnovsky 1965 modified by Da Cunha et al. 2000). Then they were post-fixed in a 1% osmium tetroxide and 0.05M sodium cacodylate buffer at pH 7.2 for two hours at room temperature. After dehydration in an ascending series of acetone, the material was embedded in epoxy resin (Polybed). Semi-thin sections of approximately 70 µm were obtained in an ultramicrotome (*Reichert Ultracuts Leica*

*Instruments*<sup>®</sup>, South Carolina, USA), using a diamond knife (Diatome<sup>®</sup>, Hatfield, UK). The sections obtained were stained with 1% toluidine blue and 1% borax buffer (Johansen 1940) and observed under a light microscope (Axioplan, ZEISS, Germany) coupled to an image capture system (Moticam Pro 282B, Hong Kong)

#### **4.3.6 Ultrastructural analysis**

Samples were subjected to the same processing used for light microscopy. 70 nm ultrathin sections were collected on copper grids (300 mesh) and counterstained with 5% lead citrate and 1% uranyl acetate (Reynolds 1963). The samples were subsequently observed in a transmission electron microscope (JEOL 1400 Plus, Japan) at a voltage of 80 kV.

#### **4.3.7 Chlorophyll *a* Fluorescence**

Chlorophyll *a* fluorescence emission was measured using the FMS2 portable modulated fluorimeter (Hansatech, UK). Measurements were taken on five individuals from each area (flooded and non-flooded). Five fully expanded, healthy, and similarly colored leaves were selected from each individual and were exposed to the dark with the aid of tweezers for 30 minutes. Then, they were exposed to a measuring light of approximately  $6 \mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  at 660 nm, followed by exposure to high intensity actinic white light ( $10,000 \mu\text{mol. m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ) applied for 0.8 seconds, a procedure modified from Genty et al. (1989). The following chlorophyll *a* fluorescence kinetics variables were recorded and analyzed: maximum quantum yield of photosystem II (PSII) ( $F_v/F_m$ ); photochemical quenching ( $qP$ ); non-photochemical quenching ( $NPQ$ ).

#### **4.3.8 Photosynthetic pigments**

Leaf blade discs with 0.5 cm diameter were taken from the same leaves used to measure chlorophyll *a* fluorescence emission to determine the content of photosynthetic pigments. The discs were placed in plastic tubes containing 5.0 mL of 100% acetone (Moran 1982) and protected from light for five days. Pigment concentration readings were taken in a spectrophotometer (TCC-240A, Shimadzu, Kyoto, Japan) at 470, 695, and 663 nm absorbances. Determinations of the above pigment concentrations (Chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, and carotenoids) were performed with the equations described by Wellburn (1994).

#### 4.3.9 Plasticity and phenotypic integration

The relative distance plasticity index (RDPI) was calculated individually for each traits based on the following equation proposed by Valladares et al. (2006).

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

Where  $i =$

Where  $i =$  study ( $i =$  flooded;  $i' =$  non-flooded, with  $i \neq i'$ );  $j =$  number of individuals ( $j =$  five individuals in the flooded area;  $j' =$  five individuals in the non-flooded area, with  $j \neq j'$ );  $x =$  traits analyzed (22 traits analyzed). Therefore,  $x_{ij} \neq x_{i'j'}$  (for example,  $x_{ij} =$  flooded area and  $x_{i'j'} =$  non-flooded area). The expressions  $d_{ij \rightarrow i'j'}$  = relative distance between traits, calculated from the subtraction in pairs for each trait;  $x_{i'j'} + x_{ij}$  = sum of repetitions in pairs for each trait;  $n =$  corresponds to the total number of distances.

RDPI Mean values were used to estimate the mean phenotypic plasticity at the organizational group level of traits (morphological, anatomical, and physiological).

The phenotypic integration index (PII) was calculated for each species from the number of significant correlations ( $N^{\circ}Correlations\ Significant$ ) and the number of total correlations ( $N^{\circ}Correlations\ Total$ ) (Schlichting 1986; Schlichting and Pigliucci 1998). The PII was estimated individually for the 22 attributes analyzed, both for each organizational group attribute and at the species level. The number of  $N^{\circ}Correlations\ Significant$  and  $N^{\circ}Correlations\ Total$  was obtained through the Pearson correlation ( $P \leq 0.05$ ) using Sigma Plot 11.0 software (SPSS; Chicago, IL, USA).

$$(\%PI) = \frac{[N^{\circ}Correlations\ Significant * 100]}{N^{\circ}Correlations\ Total}$$

Due The plasticity (RDPI) and phenotypic (PI) ranged from 0 to 1 (or 0 to 100%), represents no plasticity or integration and 1 (or 100%) represents maximum plasticity or integration (Valladares et al. 2000; Godoy et al. 2012).

#### 4.3.10 Statistical analysis

Due to the sample size, we chose to use the Shapiro-Wilk test (Shapiro and Wilk 1965) when  $n < 30$  and the Kolmogorov-Smirnov test (Hollander and Wolfe

1973) for  $n > 30$  to verify normality. The Levene test (Zar 2010) was used to verify data homogeneity. Based on the normality and homogeneity analyses, the data were not homoscedastic. Therefore, to verify the significance between the mean values of the attributes analyzed in the flooded and non-flooded areas the non-parametric Mann-Whitney ( $p < 0.05$ ) test was applied (Zar 2010) through Statistica 7 software (Statsoft Tulsa, UK). For the regression analysis, the data were normalized by the log10 and square root function before application of the Pearson correlation using the Sigma Plot 11.0 program (SPSS; Chicago, IL, USA).

## **4.4 Results**

### ***4.4.1 Morphological leaf blade traits***

Three species invested in thicker leaves and higher specific leaf mass values (LSM) in flooded environments (Table 2). Leaf succulence showed significant differences only for *V. discolor* in the flooded area and did not differ between environments for the other species (Table 2). Leaf density did not show a pattern of response between species. Higher values were observed for *G. guidonia* in the flooded area and *A. anthelmia* in the non-flooded area, while there were no differences between areas for *V. discolor* (Table 2). The leaf area tended to show higher values in the non-flooded areas, with significant differences observed for *G. guidonia* and *A. anthelmia*. However, no differences were observed for *V. discolor* (Table 2).

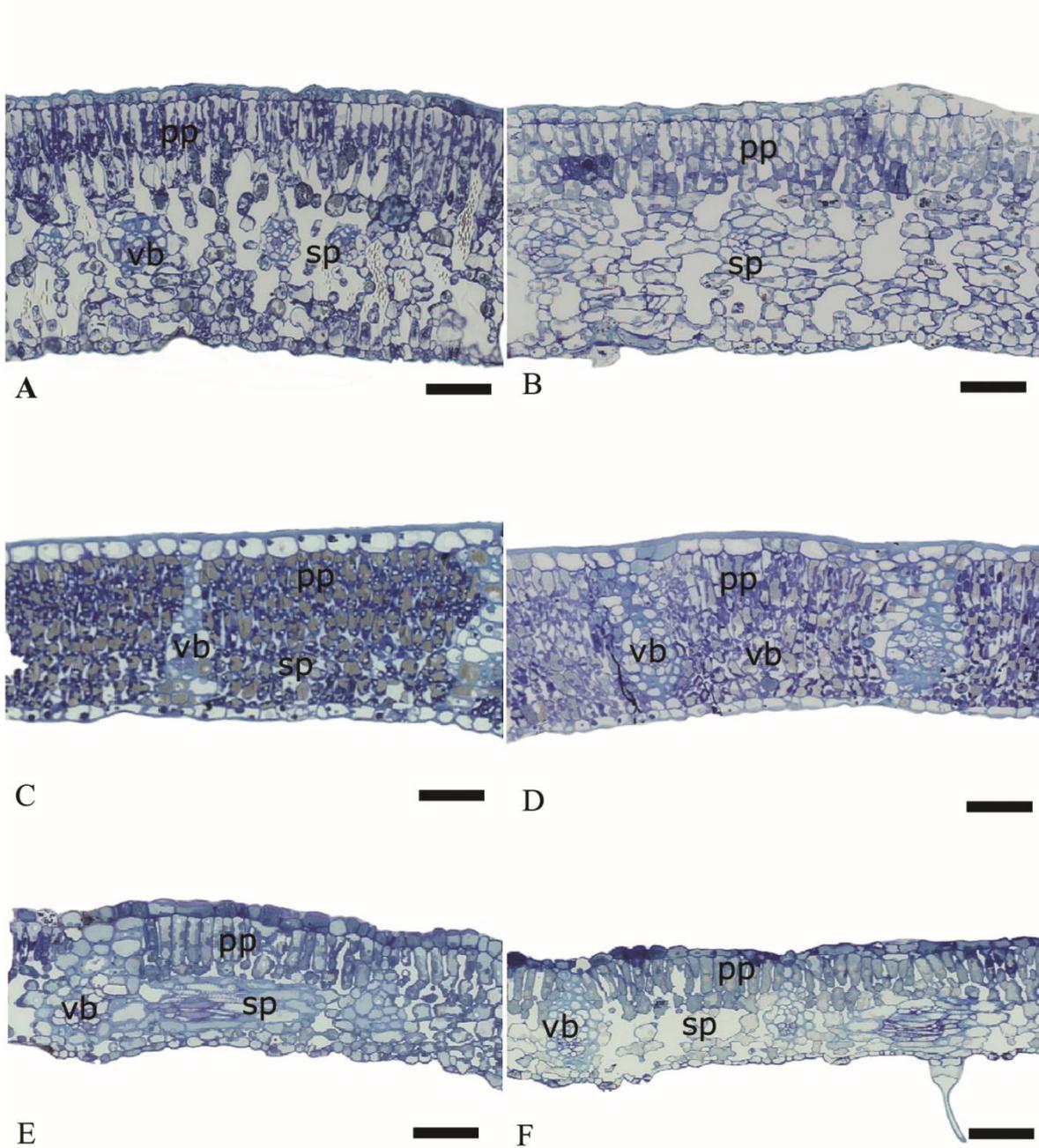
**Table 2.** Mean values ( $\pm$  standard deviation) of the morphological, anatomical, and photosynthetic pigment attributes of the species *Guarea guidonia*, *Andira anthelmia*, and *Vernonanthura discolor* in a flooded and non-flooded area. Asterisks (\*) indicate significant differences between the flooded and non-flooded areas (Mann-Whitney test;  $p < 0.05$ ).

	Traits	<i>G. guidonia</i>		<i>A. anthelmia</i>		<i>V. discolor</i>	
		Flooded	Unflooded	Flooded	Unflooded	Flooded	Unflooded
Morphology	Thickness (mm)	0.26 $\pm$ 0.021*	0.18 $\pm$ 0.03	0.37 $\pm$ 0.03*	0.26 $\pm$ 0.04	0.35 $\pm$ 0.08*	0.33 $\pm$ 0.09
	Succulence (gm <sup>-2</sup> )	134.39 $\pm$ 8.1	182.80 $\pm$ 27.9	112.1 $\pm$ 2.0	100.0 $\pm$ 15.3	391.7 $\pm$ 85.5*	383.4 $\pm$ 44.3
	LSM (gm <sup>-2</sup> )	63.0 $\pm$ 0.4*	38.2 $\pm$ 5.4	52.2 $\pm$ 1.8*	50.9 $\pm$ 9.0	40.7 $\pm$ 5.4*	29.2 $\pm$ 0.5
	Density (gm <sup>-2</sup> )	241.12 $\pm$ 19.3*	207.5 $\pm$ 10.4	140.1 $\pm$ 18.0	198.9 $\pm$ 71.1*	121.9 $\pm$ 45.0	92.9 $\pm$ 27.8
	Leaf Area (cm <sup>-2</sup> )	23.5 $\pm$ 3.1	33.1 $\pm$ 0.02*	19.7 $\pm$ 5.7	32.4 $\pm$ 7.2*	15.3 $\pm$ 2.8	23.5 $\pm$ 0.4
Anatomy	Leaf Blade ( $\mu$ m)	262.9 $\pm$ 5.2*	262.6 $\pm$ 11.8	199.5 $\pm$ 14.4*	182.7 $\pm$ 10.4	190.6 $\pm$ 58.6*	176.9 $\pm$ 19.8
	Palisade parench. ( $\mu$ m)	82.6 $\pm$ 15.1*	72.0 $\pm$ 0.5	75.3 $\pm$ 19.2	87.2 $\pm$ 1.1	78.6 $\pm$ 17.4*	62.9 $\pm$ 6.4
	Spongy parench. ( $\mu$ m)	141.5 $\pm$ 0.5	141.7 $\pm$ 0.2	106.2 $\pm$ 17.4*	53.0 $\pm$ 1.7	81.9 $\pm$ 27.3	77.7 $\pm$ 1.7
	Adaxial Ep. ( $\mu$ m)	14.8 $\pm$ 5.5*	9.9 $\pm$ 5.7	19.0 $\pm$ 6.1	15.1 $\pm$ 3.9	12.7 $\pm$ 0.4*	12.6 $\pm$ 4.1
	Adaxial Cut. ( $\mu$ m)	5.8 $\pm$ 4.7*	2.6 $\pm$ 1.9	8.3 $\pm$ 5.0*	4.0 $\pm$ 1.6	3.8 $\pm$ 1.4*	2.4 $\pm$ 0.6
	Abaxial Ep. ( $\mu$ m)	10.0 $\pm$ 1.7*	7.7 $\pm$ 3.0	7.1 $\pm$ 1.1	6.5 $\pm$ 2.0	7.3 $\pm$ 0.9	8.5 $\pm$ 2.0
	Abaxial Cut. ( $\mu$ m)	4.2 $\pm$ 1.9*	2.2 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 2.4	2.8 $\pm$ 1.1	1.8 $\pm$ 0.3	2.8 $\pm$ 1.0
	Stomatal Density (mm <sup>-2</sup> )	21.8 $\pm$ 5.2	18.5 $\pm$ 5.2	50.2 $\pm$ 2.8*	35.0 $\pm$ 11.0	24.3 $\pm$ 12.3*	18.7 $\pm$ 4.5
	Stomatal Area ( $\mu$ m)	101.8 $\pm$ 23.1	86.8 $\pm$ 23.2	37.3 $\pm$ 10.3	62.5 $\pm$ 12.9*	73.8 $\pm$ 20.5	72.1 $\pm$ 35.0
Pigments	Chlorophyll a ( $\mu$ mol cm <sup>-2</sup> )	20.1 $\pm$ 4.2	30.4 $\pm$ 5.2*	32.7 $\pm$ 9.3	26.3 $\pm$ 5.1	16.6 $\pm$ 2.8	23.2 $\pm$ 5.6*
	Chlorophyll b ( $\mu$ mol cm <sup>-2</sup> )	14.8 $\pm$ 2.7	20.9 $\pm$ 3.9*	21.9 $\pm$ 6.8	16.9 $\pm$ 3.1	11.1 $\pm$ 1.9	14.2 $\pm$ 3.3
	Carotenoids ( $\mu$ mol cm <sup>-2</sup> )	6.5 $\pm$ 1.3	6.9 $\pm$ 1.8	7.7 $\pm$ 2.6	6.2 $\pm$ 2.2	3.6 $\pm$ 0.7	6.2 $\pm$ 1.9*
	Chlorophyll a/b	1.3 $\pm$ 0.08	1.4 $\pm$ 0.07*	1.4 $\pm$ 0.02	1.5 $\pm$ 0.02*	1.4 $\pm$ 0.09	1.5 $\pm$ 0.03*
	Chlo/Carot.	6.2 $\pm$ 0.6	10.6 $\pm$ 4.6*	9.5 $\pm$ 2.7	7.9 $\pm$ 1.5	8.5 $\pm$ 1.2	7.1 $\pm$ 0.6

#### 4.4.2 Anatomical leaf blade traits

The three species presented divergences regarding some anatomical traits in the flooded and non-flooded areas (Table 2 and Figure 1). Although all species presented uniseriate epidermis on the adaxial and abaxial faces that were covered by cuticle (Figure 1), it was possible to observe that the species showed some significant differences in the thickness of the epidermis and cuticle between the areas (Table 2).

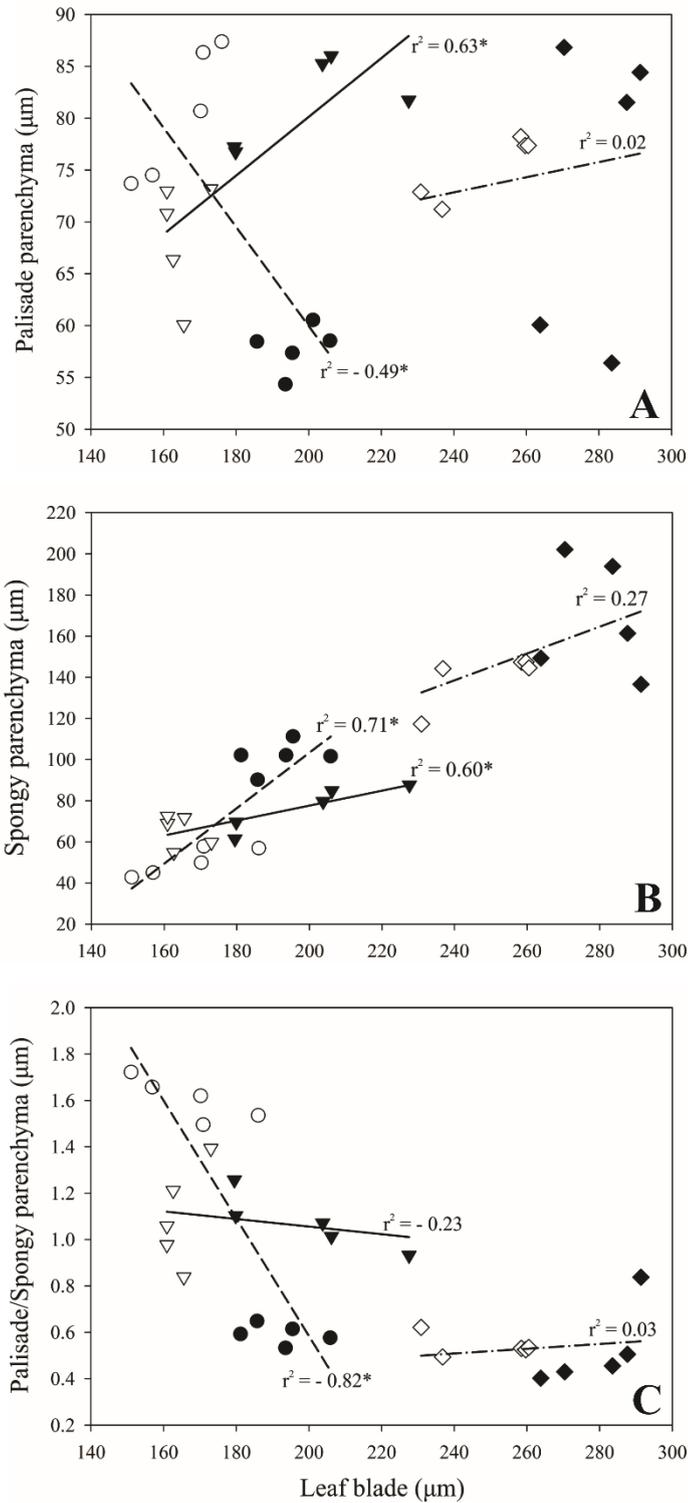
The leaf blades of the three species were characterized as dorsiventral (Figure 1), and it was possible to observe greater thickening of the leaf blade and adaxial cuticle under the flooding regime (Table 2; Figure 1). Individuals of *G. guidonia* and *V. discolor* showed higher values of palisade parenchyma in the flooded area, while individuals of *A. anthelmia* did not show significant differences between the areas (Table 2; Figure 1). As for the spongy parenchyma, only individuals of *A. anthelmia* presented significantly higher values under the flooding regime (Table 2; Figure 1). Regarding the epidermis on the adaxial face, *G. guidonia* and *V. discolor* individuals exhibited higher values in the flooded area. For epidermis on the abaxial surface, only *G. guidonia* showed higher values in the flooded area, while *A. anthelmia* did not show differences in the thickness of either side of the epidermis in the presence of flooding (Table 2; Figure 1). Regarding the abaxial cuticle, only *G. guidonia* individuals presented significantly higher values in the flooded area (Table 2; Figure 1).



**Figure 1:** Cross sections of the leaf blades of *Guarea guidonia*, *Andira anthelmia*, and *Vernonia discolor* observed with light microscopy. *G. guidonia* leaf blade in the flooded (A) and non-flooded (B) areas; *A. anthelmia* in the flooded (C) and non-flooded (D) areas; and *V. discolor* in the flooded (E) and non-flooded (F) areas. pp - palisade parenchyma; sp - spongy parenchyma; vb - vascular bundle. Bars: 20μm.

Through Pearson correlation ( $p \leq 0.05$ ), it was possible to observe independent variations in leaf blade thickening patterns in response to flooding and non-flooding conditions among the three species studied (Figure 2). For *V. discolor*, a positive correlation was observed between leaf blade thickness and palisade parenchyma ( $r^2 = 0.63$ ,  $p = 0.005$ ) and spongy thickness ( $r^2 = 0.60$ ,  $p = 0.0080$ ) (Figure 2 A and B). However, leaf blade thickness for *A. anthelmia* individuals varied negatively as a function of palisade parenchyma thickening ( $r^2 = - 0.49$ ,  $p = 0.02$ ) and positively with respect to spongy parenchyma thickening ( $r^2 = 0.71$ ,  $p \leq 0.01$ ) (Figure 2 A and B). Only in the case of *A. anthelmia* was it possible to detect a significantly negative relationship in the correlation between leaf blade thickness and the palisade/spongy parenchyma ratio ( $r^2 = - 0.82$ ,  $p \leq 0.01$ ) (Figure 2 C). No statistically significant correlations between these attributes in *G. guidonia* individuals were identified (Figure 2 A-C).

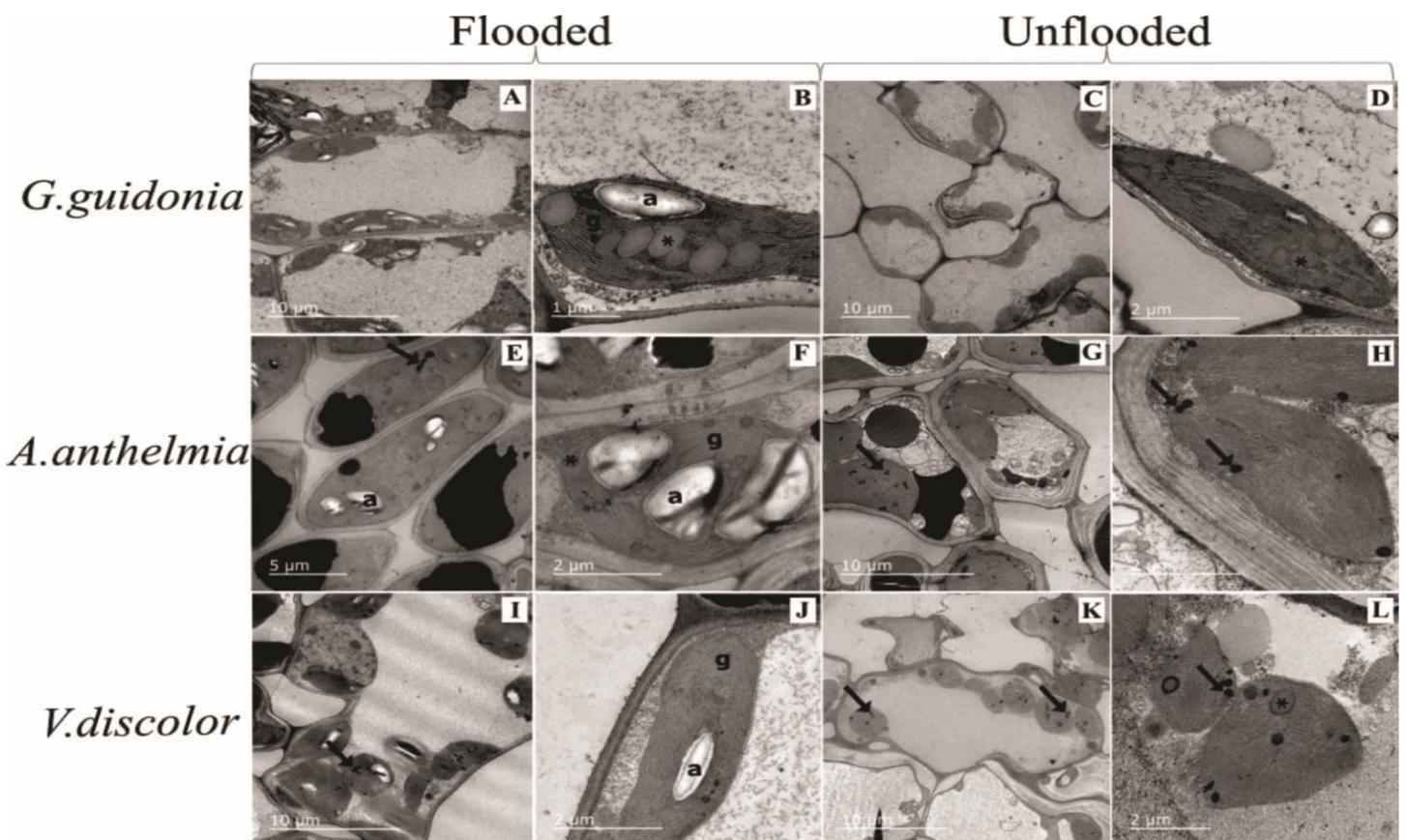
Regarding the stomata, the three species had amphistomatic leaves with stomata located at the same level as the other epidermal cells (Figure 1 A–D); the exception was *V. discolor*, which had stomata located in epidermal elevations (Figure 1 E – F). Between the flooded and non-flooded areas, the stomatal density showed significant differences only for the species *A. anthelmia* and *V. discolor*, and the stomata area showed significant changes only for *A. anthelmia* (Table 2).



**Figure 2.** Linear regression ( $p \leq 0.05$ ) between the anatomical attributes of the leaf blades of *Guarea guidonia* (diamond), *Andira anthelmia* (circles), and *Vernonthura discolor* (triangles) in response to flooded and non-flooded conditions. A – Relation between the palisade parenchyma and the leaf blade thickness; B - Relation between spongy parenchyma and leaf blade thickness; C - Relation between the palisade/spongy parenchyma ratio and leaf blade thickness.

#### 4.4.3 Chloroplast ultrastructure

Ultrastructural discrepancies were observed in the leaf blade chloroplasts of *G. guidonia*, *A. anthelmia*, and *V. discolor* with respect to the flooded and non-flooded areas (Figure 3). The chloroplasts of the three species in the flooded area had thylakoid stacked in granum, a condition not identified in the chloroplasts associated with the non-flooded area (Figure 3). The three species showed greater starch grains and lipid drops in the flooded area (Figure 3 A, B, E, F, I, J). And also observed a higher level of plastoglobules in the chloroplasts of *A. anthelmia*, and *V. discolor* in the non-flooded area (Figure 3G, H, K, L). Plastoglobules presence was not observed for *G. guidonia* in either area (Figure 3 A, B, C, D).

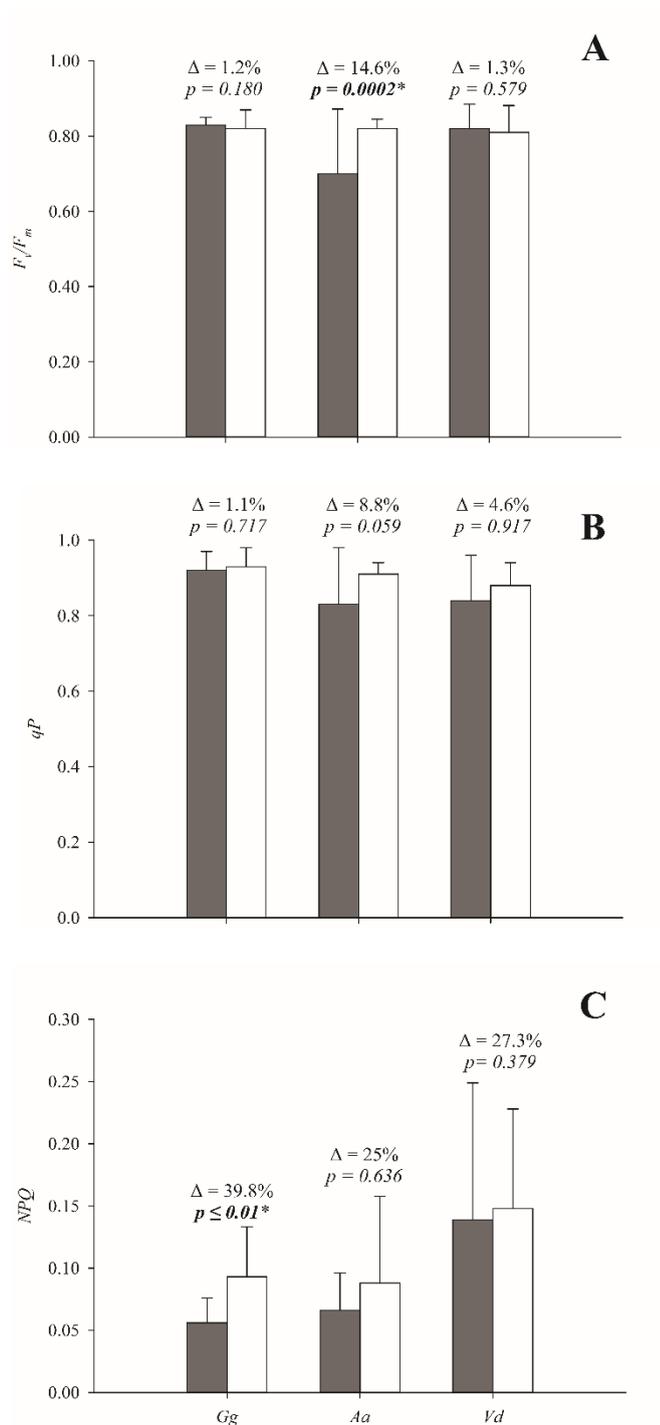


**Figure 3:** Ultrastructural characterization of chloroplasts from *Guarea guidonia*, *Andira anthelmia*, and *Vernonia discolor* performed by transmission electron microscopy. *G. guidonia* chloroplasts in flooded (A and B) and non-flooded (C and D) areas; *A. anthelmia* in flooded (E and F) and non-flooded (G and H) areas; *V. discolor* in flooded (I and J) and non-flooded (L and M) areas. g: thylakoid membranes organized in grains; a: starch grains; asterisk: lipid drops; arrows: plastoglobules. Bars: A, C, G, H, and I: 10 μm; B: 5 μm; E, F, J, L, and M: 2 μm; C and H: 1 μm; D: 0.5 μm.

#### 4.4.4 Chlorophyll *a* fluorescence and photosynthetic pigment content

Chlorophyll *a* fluorescence analysis was performed to evaluate the photosystem II (PSII) quantum yield of the three species under the flooded and non-flooded conditions. The maximum PSII quantum yield ( $F_v/F_m$ ) showed significant differences for *A. anthelmia*, and a 14.6% reduction in  $F_v/F_m$  was detected in individuals exposed to the flooding condition. For the other species, reductions in  $F_v/F_m$  in the non-flooded area for *G. guidonia* and *V. discolor* were observed (1.2% and 1.3%, respectively). However, this reduction was not statistically significant (Figure 4A). Photochemical dissipation ( $qP$ ) did not show significant differences between the study areas. However, a reduction in  $qP$  of 1.1% was observed for *G. guidonia*, of 8.8% for *A. anthelmia*, and of 4.6% for *V. discolor* (Figure 4B). The non-photochemical dissipation ( $NPQ$ ) was significantly lower for *G. guidonia* in the flooded area, demonstrating a reduction in  $NPQ$  of 39.8%. There was a reduction of 25.0% in the  $NPQ$  for *A. anthelmia* and of 27.3% for *V. discolor*. However, these reductions do not represent significant differences between areas (Figure 4C).

Chlorophyll *a* and *b* parameters only presented significant differences for the species *G. guidonia* and *V. discolor* in the non-flooded area. In contrast, the values did not show variation for *A. anthelmia* between the areas. The chlorophyll *a/b* ratio in the species *G. guidonia*, *A. anthelmia*, and *V. discolor* also showed higher values in the non-flooded area (Table 2). As for carotenoids, higher values associated with *V. discolor* occurred in the non-flooded area. The Chlo/Carot ratio only presented significant values for the species *G. guidonia* in the non-flooded area (Table 2).



**Figure 4:** Mean values ( $\pm$  standard deviation) of photosystem II performance evaluated during the day using chlorophyll *a* fluorescence for the species *Guarea guidonia*, *Andira anthelmia*, and *Vernonanthura discolor* in flooded (grey bar) and non-flooded (white bar) areas. A - Maximum PSII quantum yield ( $F_v/F_m$ ); B - photochemical quenching ( $qP$ ); C - non-photochemical quenching ( $NPQ$ ). (Mann-Whitney test;  $p < 0.05$ ).

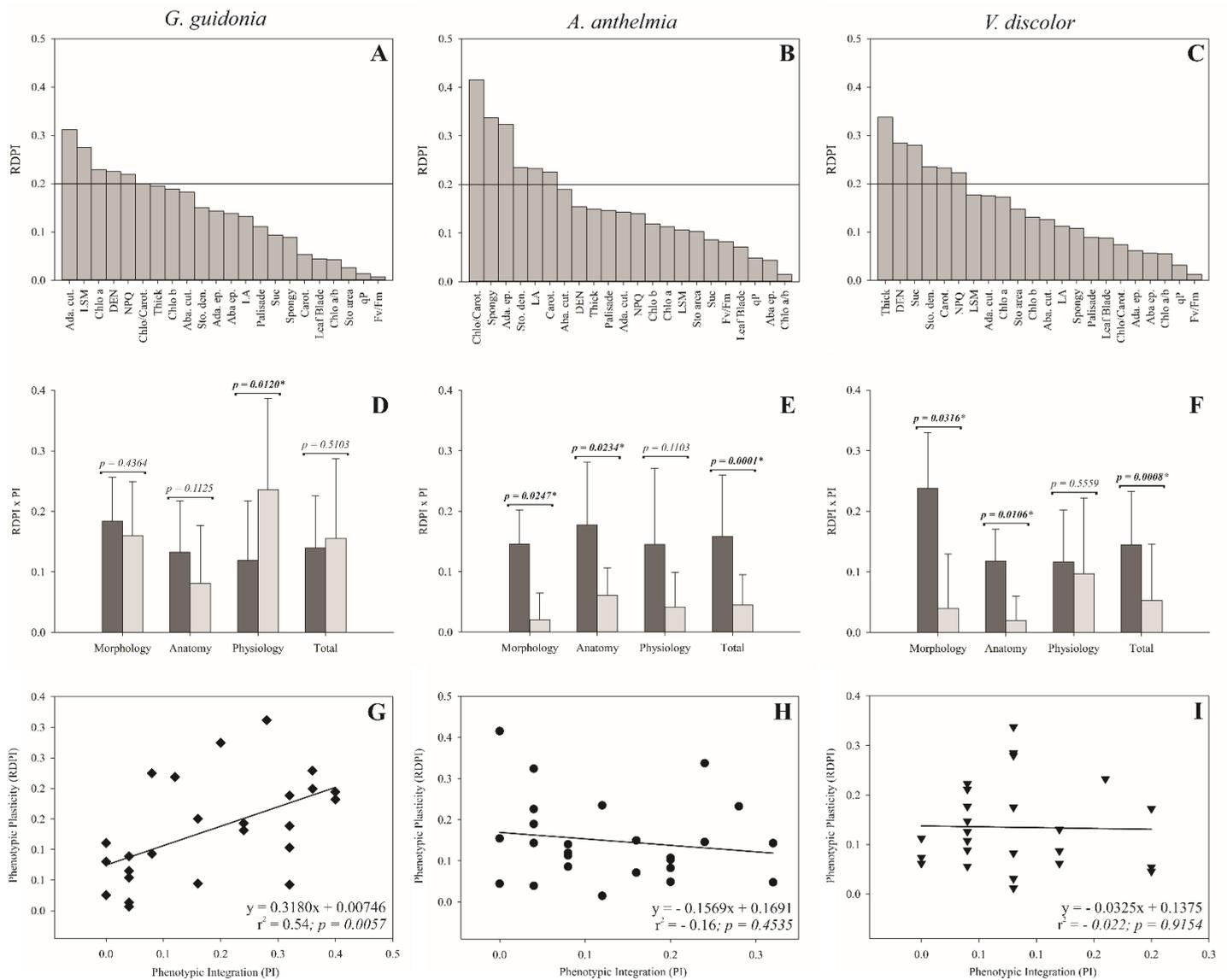
#### 4.4.5 Plasticity and integration phenotypic

Traits with RDPI values  $\geq 0.2$  were considered the most plastic. Thus, the traits that showed the greatest phenotypic plasticity in *G. guidonia* were adaxial

cuticle (0.31), LSM (0.27), chlorophyll *a* content (0.23), leaf density (0.23), *NPQ* (0.22), and chlorophyll/carotenoid ratio (0.20) (Figure 5A). For *A. anthelmia*, the most plastic traits were the chlorophyll/carotenoids ratio (0.42), spongy parenchyma (0.34), adaxial epidermis (0.32), stomatal density (0.24), leaf area (0.23), and carotenoid content (0.23) (Figure 5 B). For *V. discolor*, the most plastic traits were leaf thickness (0.34), leaf density (0.28), leaf succulence (0.28), stomatal density (0.21), carotenoid content (0.23), and *NPQ* (0.22) (Figure 5 C).

The t-test ( $p \leq 0.05$ ) revealed that the acclimatization of *A. anthelmia* and *V. discolor* to the flooding and non-flooding conditions was driven by phenotypic plasticity, which was demonstrated by the higher values of RDPI total in relation to PI total (Figures 5 E and F). The highest values of RDPI total found for *A. anthelmia* and *V. discolor* are the result of significantly higher values of RDPI in relation to PI for morphological and anatomical traits, since no significant differences were observed between RDPI and PI for physiological traits (Figures 5 E and F). On the other hand, *G. guidonia* did not present differences between RDPI total and PI total, and significantly higher values of PI in relation to RDPI were only observed for physiological traits (Figure 5D).

Linear regression analysis ( $p \leq 0.05$ ) revealed a significant positive correlation between RDPI and PI ( $r^2 = 0.54$ ,  $p = 0.0057$ ) for *G. guidonia* (Figure 5 G), while non-significant negative correlations between RDPI and PI were obtained for *A. anthelmia* ( $r^2 = -0.16$ ,  $p = 0.453$ ) and *V. discolor* ( $r^2 = -0.022$ ,  $p = 0.9154$ ) (Figure 5 H and I).



**Figure 5.** Analysis of plasticity and phenotypic integration of species *Guarea guidonia*, *Andira anthelmia*, and *Vernanthura discolor* in relation to contrasting flooding conditions. A, B, and C - Relative distance plasticity index (RDPI) values for all analyzed attributes. Cross line represents the cutoff value selected to indicate the most plastic attributes of the flooding conditions. D, E, and F - Mean values ( $\pm$  standard deviation) of the Relative distance plasticity index - RDPI (grey bars) and the phenotypic integration index - PI (light gray bars) for the analyzed functional attribute groups (morphological, anatomical, and physiological). (t-test,  $p < 0.05$ ). G, H, and I - Linear regression analysis between phenotypic plasticity (RDPI) and phenotypic integration (PI) for the species *G. guidonia* (G - diamond), *A. anthelmia* (H - circles), and *V. discolor* (I - triangles). The  $r^2$  and  $p$  values are presented in each graph ( $p \leq 0.05$ ).

#### 4.5 Discussion

This study shows that the species *G. guidonia*, *A. anthelmia*, and *V. discolor* have developed efficient mechanisms for overcoming the stress caused by permanent flooding and revealed their plant responses to flooding. These changes involved alterations in leaf morphology, anatomy, and physiology. The high degree

of phenotypic plasticity makes it possible to infer that these strategies were essential for these species to establish themselves and grow under flooded conditions.

Some leaf morphoanatomical traits showed coordinated responses due to variation between the flooded and non-flooded areas. The three species studied presented higher leaf thickness, succulence, and LSM values in the flooded area, demonstrating a greater carbon targeting for the construction of mesophyll tissues (Raymundo et al. 2018). The increase in leaf blade thickness in species subjected to flooding occurred through the consequent increase in the number or size of cells in the palisade and/or spongy parenchyma (Cavallero et al. 2009). The results show that the greater leaf thickness in *G. guidonia* and *V. discolor* is mainly influenced by the palisade parenchyma thickness. At the same time, in *A. anthelmia*, it was more closely related to the spongy parenchyma thickness. Thickening was more significant in the palisade parenchyma cells observed in *G. guidonia* and *V. discolor* may be related to nutritional deficiencies typically found in flooded areas (Santiago et al. 2014). We suggest that the thickening of the palisade parenchyma in these species is related to the increase in the storage area of non-structural carbohydrates. Under flooding conditions, the translocation of photoassimilates from shoot to root is compromised, resulting in the accumulation of starch and lipid droplets in the leaves (Kreuzwieser et al. 2004; Herrera 2013).

The increase in starch grains and lipid drops observed in the chloroplasts of the species under flooding conditions reflects the compromised translocation of photoassimilates throughout the plant. In species that live in flooding conditions, there is depletion in the phloem flow, causing a decrease in carbon fixation and starch accumulation in chloroplasts (Malinova et al. 2017; Seung et al. 2018). The lipid drops observed in individuals in the flooded area may be another essential energy strategy developed by the species to maintain metabolic balance in the face of low nutrient availability in flooded areas (Adeyo et al. 2011; Markgraf et al. 2014). Furthermore, the plastoglobules presence was observed in the species studied in both areas. Several forms of environmental stress promote plastoglobule syntheses, such as flooding, nutritional deficit, drought, high irradiance, and infection by microorganisms (Kanwischer et al. 2005; Mutava et al. 2015; Espinoza -Corral et al. 2021), making plastoglobules an “almost constitutive structure” for chloroplasts regardless of the environment.

On the other hand, the greater thickening of the spongy parenchyma in *A. anthelmia* in flooded areas may be related to improved gas exchange (Zhang et al.

2017). As the gas exchange is inhibited in flooded areas, the formation of leaves with wide intercellular spaces can improve CO<sub>2</sub> diffusion (Vashisht et al. 2010). Furthermore, the lower leaf density and higher stomatal density observed in *A. anthelmia* leaves reinforce the hypothesis that the species invested in morphoanatomical architecture improve gas diffusion in the leaves under flooding conditions. According to the model Baillie & Fleming (2020) proposed, the formation of air spaces in the mesophyll can be correlated with stomatal density, controlled by the propagation of signals from guard cells. Lundgren et al. (2019) further attribute the coordination between mesophyll and stomata differentiation to environmental factors that modulate plant development and physiological demands. Therefore, it is possible to suggest that flooding conditions may have induced a coordinated response during the development of the mesophyll and stomata in *A. anthelmia* to promote the enhanced regulation of gas exchange.

Leaf area is a morphological feature affected by flooding conditions (Colmer and Voesenek 2009). In this study, it was possible to observe that the species *G. guidonia* and *A. anthelmia* presented lower leaf area values in the flooded area. These responses may be associated with conditions of common hypoxia in flooded areas (Veen and Perata 2016). Hypoxia leads to a reduction in leaf area due to limited absorption and transport of ions, resulting in mineral deficits for the shoots (Horcani 2011). Additionally, the reduction in stomatal conductance, and the consequent decrease in the CO<sub>2</sub> assimilation rate, helps to explain the reduction in plant leaf area under flooded conditions (Li et al. 2017).

The species in this study displayed greater thickening of the cuticles and epidermises to reduce the influx of water in the leaves and improving mechanical resistance in a flooded environment (Waldhoff and Junk 2002). In addition, flooded conditions are conducive to the stabilization of microorganisms on the leaves (Fraaije et al. 2015). Thus, the development of thicker cuticles and epidermis could establish a physical barrier against pathogenic microorganism activities in the mesophyll (Van Bael and Wcisłol 2011).

Decreases in photosynthetic pigment concentrations have been interpreted to respond to flooding (Zanandrea et al. 2009). Flooding conditions can compromise the synthesis and/or cause chlorophyll degradation (Chen et al. 2005; Coutinho et al. 2018). This variation may explain the lower values for chlorophyll *a* and *b*, carotenoids, and the chlorophyll *a/b* and chlorophyll/carotenoid ratios observed in the flooded area. Liu et al. (2013) demonstrated that the deficiency of

O<sub>2</sub> and N, commonly encountered in flooded environments, compromises the chlorophyll synthesis. Park and Lee (2019) showed that flooding could increase the production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and promote the oxidation of chlorophyll molecules.

Additionally, transcriptome studies performed on *Triarrhena sacchariflora* (Maxim.) Nakai (Poaceae) demonstrated that the genes that encode the structural proteins of photosystem II (PSII) light-harvesting complexes (e.g., Chlorophyll A-B binding protein) were down-regulated. In contrast, genes related to the expression of enzymes related to chlorophyll hydrolysis (e.g., Chlorophyll-chlorophyllido hydrolase) were up-regulated under conditions of prolonged flooding stress (Wang et al. 2019). Thus, many factors can explain the lower values of photosynthetic pigments found for the species studied under flooding conditions.

The differences in photosynthetic pigment content did not influence the PSII photochemical yield from *G. guidonia*, and *V. discolor* between the flooded and non-flooded areas. The maximum PSII quantum yield ( $F_v/F_m$ ) and the photochemical dissipation ( $qP$ ) exceeded 0.75 for these species in both areas, indicating that more than 75% of the light captured by chlorophyll molecules was directed to photochemical processes (Janik et al. 2017). According to Bolhàr-Nordenkamp and Öquist (1993), these values are associated with well-functioning PSII, demonstrating that the flooding conditions did not influence the photochemical performance of these species. Additionally, the low values for  $\Delta F_v/F_m$  and  $\Delta qP$  found for *G. guidonia* and *V. discolor* further reinforce the hypothesis that these species are photochemically acclimated to flooding conditions.

On the other hand, *A. anthelmia* presented higher values for  $\Delta F_v/F_m$  and  $\Delta qP$ , demonstrating that the flooding condition influenced PSII functioning. The presence of significantly lower values of  $F_v/F_m$  observed for this species in the flooded area suggests a lower photochemical efficiency of PSII. However, this reduction does not characterize photoinhibition since the values remained above the minimum threshold of 0.70 proposed by Bolhàr-Nordenkamp and Öquist (1993) as indicators of photoinhibition. The reduction in  $F_v/F_m$  values may be related to a decrease in the consumption of ATP and NADPH resulting from the inhibition of the CO<sub>2</sub> fixation cycle (Bolhàr-Nordenkamp and Öquist 1993; Burcher et al. 2018). The apparent increase in starch grain accumulation in *A. anthelmia* chloroplasts in the flooded area may represent a strategy to avoid the total inhibition of CO<sub>2</sub> fixation. As phloem flux under flooding conditions is lower, soluble sugar levels in leaves can

increase and inhibit photosynthesis (Malinova et al., 2017; Seung et al. 2018). However, increased starch synthesis in chloroplasts prevents the accumulation of soluble sugars and can re-establish CO<sub>2</sub> fixation processes (AbdElgawad et al. 2020). Additional investigation has been needed to promote a more detailed understanding of the physiological dynamics of *A. anthelmia* under flooding conditions.

The presence of lower non-photochemical dissipation (*NPQ*) values observed in *G. guidonia* in the flooded area does not represent a significant physiological change since the *NPQ* values are much lower than the *qP* values. These results demonstrate that a large part of the absorbed light is directed to photosynthetic processes and not dissipated as heat (Maxwell and Johnson 2000; Jahns and Holzwarth 2012). This trait is a good indication that *G. guidonia* is well acclimated to flooding conditions.

Plasticity and phenotypic integration analyses were performed to understand the three species' acclimatization dynamics in response to flooding conditions. The results show that *A. anthelmia* and *V. discolor* acclimatization was mainly mediated by plastic adjustments to morphological and anatomical attributes. The morphoanatomical traits that presented the greatest response amplitude reflect an acclimatization strategy related to low nutritional availability expected in flooded areas (chlorophyll/carotenoids ratio, leaf area, density, leaf thickness, and succulence) (Villar et al. 2013), the aeration process, and the hydrostatic resistance of leaves (thickening of the spongy parenchyma, adaxial epidermis, and increased stomatal density) (Vashisht et al. 2010). *G. guidonia* presented an acclimation mechanism that differed from the other species, characterized by a balance between variability and integration. This response pattern demonstrates that the acclimation of *G. guidonia* to flooding has resulted from a positive relationship between plasticity and phenotypic integration. These results conflict with the premise that genotypes with high variability rates tend to have lower functional connections between traits (Schlichting and Pigliucci 1998; Pigliucci 2003). Although *G. guidonia* has an acclimatization mechanism that differs from other species, it was possible to observe that the functional adjustments of this species also converged with to the tolerance of nutritional deficit (LSM, chlorophyll, and leaf density) and the aeration and hydrostatic leaves resistance.

#### **4.6 Conclusions**

The results show that the species analyzed had experienced alterations in such morphological characteristics as thickness, succulence, LSM, density, leaf area, and

anatomical ones, such as parenchyma, epidermis, and cuticle, allowing them to acclimate to flooding conditions like excess water and oxygen deficit. However, these acclimations were not coordinated between species.

Although the species presented distinct balances between plasticity and phenotypic integration, it was possible to observe a converging pattern for the three species characterized by investments in nutritional deficit tolerance traits, aeration, and hydrostatic support of the leaves. Although a convergent response pattern driven by the environment was observed, the acclimation process of the three species varied as a function of plasticity vs. phenotypic integration. The acclimatization of *A. anthelmia* and *V. discolor* to flooding is controlled mainly by phenotypic plasticity processes, primarily the morphological and anatomical traits of the leaves. In *G. guidonia*, the acclimation is controlled by the balance between plasticity and phenotypic integration processes.

This study suggests that the acclimatization of species to a particular environmental variable can be controlled by plastic and integrative processes of the phenotype, contradicting the premise that more integrated phenotypes limit available adjustments. Thus, this study provides data that urges future research considering the intrinsic characteristics of the species and that is designed to enhance understanding of the balance between the expression and integrative compensation of functional attributes.

**Acknowledgments:** We thank John Ditty for linguistic advice and Herik Viana for the taxonomic classification of species. They express gratitude to the LBCT/CBB Advanced Microscopy Multiuser Center for the infrastructure provided and BF Ribeiro for technical work at LBC T/CBB/UENF. We thank it license to carry out this study to SISBIO n° 62752. This study is part of the doctoral research of N.L.B at Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia/UENF.

### **Statements & Declarations**

**Funding:** This work was supported by the Fundação de Apoio à Pesquisa no Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Financial Code 001, and the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

**Competing Interests:** None declared.

**Author contributions:** SP and MC contributed to the study conception and design. NLB and MJGP species identification, material collection and morphoanatomical analysis. DSO performed the transmission electron microscopy analysis. GSF helped with chlorophyll *a* fluorescence emission analyses. GSO and SP helped with statistical analyses. The first draft of the manuscript was written by NLB and MJGP. The final review of the manuscript was performed by MD and SP. All authors read and approved the final manuscript.

#### 4.7 References

- AbdElgawad H, Avramova V, Baggerman G, Van Raemdonck G, Valkenborg D, Van Ostade X, Beemster GTS (2020) Starch biosynthesis contributes to the maintenance of photosynthesis and leaf growth under drought stress in maize. *Plant Cell Environ* 43:22542271. <https://doi.org/10.1111/pce.1383>
- Adeyo O, Horn PJ, Lee S, Binns DD, Chandrahas A, Chapman KD, Goodman JM (2011) The yeast lipin ortholog Pah1p is important for lipid droplet biogenesis. *J. Cell Biol* 192: 1043-1055. <https://doi.org/10.1083/jcb.201010111>
- Agrawal AF, Stinchcombe JR (2009) How much do genetic covariances alter the rate of adaptation? *Proc R Soc B, Biol Sci* 276: 1183-1191. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.1671>
- Alvares CA, Stape JL, Sentelhas PC, Gonçalves JLM (2012) Modeling monthly mean air temperature for Brazil. *Theor Appl Climatol* 113: 407-427. DOI 10.1007/s00704-012-0796-6
- Atwell BJ, Greenway H, Colmer TD (2014) Efficient use of energy in anoxia-tolerant plants with focus on germinating rice seedlings. *New Phytol* 206: 36-56. <https://doi.org/10.1111/nph.13173>
- Baillie A, Fleming AJ (2019) The developmental relationship between stomata and mesophyll airspace. *New Phytol* 225: 1120-1126. <https://doi.org/10.1111/nph.16341>
- Bolhàr-Nordenkamp HR, Öquist G (1993) Chlorophyll fluorescence as a tool in photosynthesis research. In: Hall DO, Scurlock JMO, Bolhàr-Nordenkamp HR, Leegood RC, Long SP (eds) *Photosynthesis and Production in a Changing Environment*, Springer, Dordrecht, 193-206. [https://doi.org/10.1007/978-94-011-1566-7\\_12](https://doi.org/10.1007/978-94-011-1566-7_12)
- Cardoso-Leite E, Pagani MI, Monteiro R, Hamburger DS (2005) Ecologia Da Paisagem: Mapeamento da Vegetação da Reserva Biológica da Serra do Japi, Jundiaí, Sp, Brasil. *Acta Bot Bras* 19: 233-243. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062005000200005>
- Cavallero L, López D, Barberis IM (2009) Morphological variation of *Aechmea distichantha* (Bromeliaceae) in a Chaco forest: habitat and size-related effects. *Plant Biol* 11: 379-391. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2008.00123.x>
- Chen H, Qualls RG, Blank RR (2005) Effect of soil flooding on photosynthesis, carbohydrate partitioning and nutrient uptake in the invasive exotic *Lepidium latifolium*. *Aquat Bot* 82: 250268. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2005.06.001>

- Colmer TD, Voisenek LACJ (2009) Flooding tolerance: suites of plant traits invariable environments. *Funct Plant Biol* 36:665-681.  
<https://doi.org/10.1071/FP09144>
- Coutinho ID, Henning LMM, Döpp SA, Nepomuceno A, Moraes LAC, Marcolino-Gomes J, et al (2018) Flooded soybean metabolomic analysis reveals important primary and secondary metabolites involved in the hypoxia stress response and tolerance. *Environ Exp Bot* 153: 176-187.  
<https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.05.018>
- Espinoza-Corral R, Schwenkert S, Lundquist PK (2021) Molecular changes of *Arabidopsis thaliana* plastoglobules facilitate thylakoid membrane remodeling under high light stress. *Plant J.* <https://doi.org/10.1111/tpj.15253>
- Esser LF, Neves DM, Jarenkow JA (2019) Habitat-specific impacts of climate change in the Mata Atlântica biodiversity hotspot. *Divers Distrib* 25: 1846-1856.  
<https://doi.org/10.1111/ddi.12984>
- Flores TB (2020) Meliaceae in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB9995>.
- Fraaije R G, Braak CJ, Verduyn B, Verhoeven JT, Soons MB (2015) Dispersal versus environmental filtering in a dynamic system: drivers of vegetation patterns and diversity along stream riparian gradients. *J Ecol* 103: 1634-1646. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12460>
- Genty B, Briantais JM, Baker NR (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim Biophys Acta Gen Subj* 990: 87-92.  
[https://doi.org/10.1016/S0304-4165\(89\)80016-9](https://doi.org/10.1016/S0304-4165(89)80016-9)
- Gianoli E, Palacio-López K (2009) Phenotypic integration may constrain phenotypic plasticity in plants. *Oikos* 118: 1924-1928.  
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0706.2009.17884.x>
- Godoy O, Valladares F, Castro-Díez P (2012) The relative importance for plant invasiveness of trait means, and their plasticity and integration in a multivariate framework. *New Phytol* 195: 912-922. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04205.x>
- Gratani L (2014) Plant phenotypic plasticity in response to environmental factors. *Adv Botany* 1–17. doi:10.1155/2014/208747
- Guedes-Bruni, Rejan R, Silva N, Sebastião J, Morim MP, Mantovani W (2006) Composição florística e estrutura de trecho de Floresta Ombrófila Densa Atlântica aluvial na Reserva Biológica de Poço das Antas, Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 57: 413-428. <https://doi.org/10.1590/2175-7860200657303>
- Herrera A (2013) Responses to flooding of plant water relations and leaf gas exchange in tropical tolerant trees of a black-water wetland. *Front Plant Sci* 4: 106. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00106>
- Hollander M, Wolfe DA, Chicken E (1973) Nonparametric statistical methods. Wiley, New York. DOI:10.1002/9781119196037
- IBGE (1992) Mapa de vegetação do Brasil. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
- IBGE. [https://geoftp.ibge.gov.br/informacoes\\_ambientais/vegetacao/mapas/brasil/vegetacao.pdf](https://geoftp.ibge.gov.br/informacoes_ambientais/vegetacao/mapas/brasil/vegetacao.pdf).
- Jahns P, Holzwarth AR (2012) The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. *Biochim Biophys Acta-Bioenerg* 1817: 182-193. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.04.012>
- Janik E, Bednarska J, Zubik M, Luchowski R, Mazur R, Sowinski K, et al (2017)

- A chloroplast “wake up” mechanism: Illumination with weak light activates the photosynthetic antenna function in dark - adapted plants. *J Plant Physiol* 210: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.12.006>
- Kanwischer M (2005) Alterations in Tocopherol Cyclase Activity in transgenic and mutant plants of *Arabidopsis* affect tocopherol content, tocopherol composition, and oxidative stress. *Plant Physiol* 137: 713-723. <https://doi.org/10.1104/pp.104.054908>
- Karnovsky MJ (1965) A high osmolarity formaldehyde-glutaraldehyde fixative for use in electron microscopy. *J Cell Biol* 27: 137-138.
- Kluge M, Ting IP (2012) *Crassulacean acid metabolism: analysis of an ecological adaptation*. Springer, Berlin
- Kreuzwieser J, Papadopoulou E, Rennenberg H (2004) Interaction of flooding with carbon metabolism of forest trees. *Plant Biol* 6: 299-306. DOI: 10.1055/s-2004-817882
- Li G, Hu S, Yang J, Schultz EA, Clarke K, Hou H (2017) Water-Wisteria as an ideal plant to study heterophylly in higher aquatic plants. *Plant Cell Rep* 36: 1225-1236. DOI 10.1007/s00299-017-2148-6
- Lima HC, Pessoa SVA, Guedes-Bruni RR, Moraes LFD, Granzotto SV, Iwamoto S (2006) Caracterização Fisionômico-Florística e Mapeamento da Vegetação da Reserva Biológica de Poço das Antas, Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguesia*; 57: 369-389. <https://doi.org/10.1590/2175-7860200657301>
- Liu G, Li Y, Migliaccio K, Olczyk T, Alva A (2013) Oxygen amendment on growth and nitrogen use efficiency of flooded Italian basil. *Int J Veg Sci* 19: 217-227. <https://doi.org/10.1080/19315260.2012.713451>
- Loreti E, van Veen H, Perata P (2016) Plant responses to flooding stress. *Curr Opin Plant Biol* 33: 64-71. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2016.06.005>
- Lundgren MR, Mathers A, Baillie A L, Dunn J, Wilson M J, Hunt L, et al (2019) Mesophyll porosity is modulated by the presence of functional stomata. *Nat Commun* 10:1-10. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10826-5>
- Malinova I, Alseekh S, Feil R, Fernie AR, Baumann O, Schöttler MA, et al (2017). Starch synthase 4 and plastidal phosphorylase differentially affect starch granule number and morphology. *Plant Physiol* 174: 73-85. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01859>
- Markgraf DF, Klemm RW, Junker M, Hannibal-Bach HK, Ejsing CS, Rapoport TA (2014) An ER protein functionally couples neutral lipid metabolism on lipid droplets to membrane lipid synthesis in the ER. *Cell Rep* 6: 44-55. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.11.046>
- Matesanz S, Blanco-Sánchez M, Ramos-Muñoz M, de la Cruz M, Benavides R, Escudero A (2021) Phenotypic integration does not constrain phenotypic plasticity: differential plasticity of traits is associated to their integration across environments. *New Phytol* <https://doi.org/10.1111/nph.17536>
- Maxwell K, Johnson GN (2000) *Chlorophyll fluorescence: a practical guide*. *J Exp Bot* 51: 659–668. <https://doi.org/10.1093/jexbot/51.345.659>
- Moran R (1982) Formulae for determination of chlorophyllous pigments extracted with N, N-dimethylformamide. *Plant Physiol* 69: 1376-1381. <https://doi.org/10.1104/pp.69.6.1376>
- Murray-Smith C, Brummitt NA, Oliveira-Filho AT, Bachman S, Moat J, Lughadha EMN, Lucas EJ (2009) Plant diversity hotspots in the Atlantic coastal forests of Brazil. *Biol Conserv* 23: 151-163. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.01075.x>
- Mutava RN, Prince SJK, Syed NH, Song L, Valliyodan B, Chen W, Nguyen HT

- (2015) Understanding abiotic stress tolerance mechanisms in soybean: A comparative evaluation of soybean response to drought and flooding stress. *Plant Physiol Biochem* 86: 109-120. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2014.11.010>
- Oliveira AKM, Gualtieri SCJ (2016) Gas exchange in young plants of *Tabebuia aurea* (Bignoniaceae Juss.) subjected to flooding stress. *Rev Arvore* 40: 39-49. <https://doi.org/10.1590/0100-67622016000100005>
- Park JS, Lee EJ (2019) Water logging induced oxidative stress and the mortality of the Antarctic plant, *Deschampsia antarctica*. *J. Ecol Environ* 43: 1-8. <https://doi.org/10.1186/s41610-019-0127-2>
- Pigliucci M (2003) Phenotypic integration: studying the ecology and evolution of complex phenotypes. *Ecol Lett* 6: 265-272. <https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00428.x>
- Porfirova S, Bergmüller E, Tropf S, Lemke R, Dörmann P (2002) Isolation of an *Arabidopsis* mutant lacking vitamin E and identification of a cyclase essential for all tocopherol biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A (PNAS)* 99: 12495-12500. <https://doi.org/10.1073/pnas.182330899>
- Raymundo D, Prado-Junior J, Carvalho FA, Do Vale VS, Oliveira PE, van der Sande MT (2019) Shifting species and functional diversity due to abrupt changes in water availability in tropical dry forests. *J Ecol* 107: 253-264. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13031>
- Reynolds ES (1963) The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol* 17: 208-212.
- Sánchez-Gómez D, Zavala MA, Valladares F (2008) Functional traits and plasticity linked to seedlings' performance under shade and drought in Mediterranean woody species. *Ann For Sci* 65: 1. DOI:10.1051/forest:2008004
- Santinato F, Silva RP, Cassia MT, Santinato R (2014) Quali-quantitative analysis of mechanized coffee harvesting operation in two crops. *Coffee Science* 9: 495-505.
- Schlichting CD (1986) The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Ann Rev Ecol Syst* 17: 667-693. Schlichting CD, Pigliucci M (1998) Phenotypic evolution: a reaction norm perspective. Sinauer associate incorporated.
- Scremin-Dias E, Lorenz-Lemke AP, Oliveira AK (2011) The floristic heterogeneity of the Pantanal and the occurrence of species with different adaptive strategies to water stress. *Braz J Biol* 71: 275-282. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842011000200006>
- Seung D, Schreier TB, Bürgy L, Eicke S, Zeeman SC (2018) Two plastidial coiled -coil proteins are essential for normal starch granule initiation in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 30: 1523-1542 <https://doi.org/10.1105/tpc.18.00219>
- Shapiro SS, Wilk MB (1965) An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52: 591-611. <https://doi.org/10.2307/2333709>
- Simon MN (2011) Acomodação fenotípica e acomodação genética: evidências e questões não resolvidas em macroevolução. *Revista da Biologia*.
- Sultan SE (2000) Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends Plant Sci* 5: 537-542. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(00\)01797-0](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(00)01797-0)
- Valladares F, Matesanz S, Guilhaumon F, Araújo MB, Balaguer L, Benito-Garzón M, et al (2014) The effects of phenotypic plasticity and local adaptation on forecasts of species range shifts under climate change. *Ecol Lett* 17: 1351-1364. <https://doi.org/10.1111/ele.12348>
- Valladares F, Sanchez-Gomez D, Zavala MA (2006) Quantitative estimation of

- phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *J Ecol* 94: 1103-1116. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2006.01176.x>
- Valladares F, Wright SJ, Lasso E, Kitajima K, Percy RW (2000) Plastic phenotypic response to light of 16 Congeneric shrubs from Panamanian rainforest. *Ecol* 81: 1925-1936. [https://doi.org/10.1890/00129658\(2000\)081](https://doi.org/10.1890/00129658(2000)081)
- Van Bael SA, Estrada C, Wcislo WT (2011) Fungal-fungal interactions in leaf-cutting ant agriculture. *Psyche*. <https://doi.org/10.1155/2011/617478>
- Vashisht D, Hesselink A, Pierik R, Ammerlaan JMH, Bailey-Serres J, Visser EJW, et al (2011). Natural variation of submergence tolerance among *Arabidopsis thaliana* accessions. *New Phytol* 190: 299-310. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03552.x>
- Veloso HP, Góes-Filho L (1982) Fitogeografia Brasileira. Classificação fisionômico ecológica da vegetação neotropical. *Boletim Técnico Projeto Radambrasil*, 1: 1-79.
- Villar R, Ruiz-Robledo J, Ubera JL, Poorter H (2013). Exploring variation in leaf mass per area (LMA) from leaf to cell: an anatomical analysis of 26 woody species. *Am J Bot* 100: 1969-1980. <https://doi.org/10.3732/ajb.1200562>
- Waldhoff D, Furch B, Junk WJ (2002) Fluorescence parameters, chlorophyll concentration, and anatomical features as indicators for flood adaptation of an abundant tree species in Central Amazonia *Symmeria paniculata*. *Environ Exp Bot* 48: 225-235. [https://doi.org/10.1016/S0098-8472\(02\)00037-0](https://doi.org/10.1016/S0098-8472(02)00037-0)
- Wang J, Sun H, Sheng J, Jin S, Zhou F, Hu Z, Diao Y (2019) Transcriptome, physiological and biochemical analysis of *Triarrhena sacchariflora* in response to flooding stress. *BMC Genetic* 20: 88. <https://doi.org/10.1186/s12863-019-0790-4>
- Weldegergis BT, Zhu F, Poelman EH, Dicke M (2015) Drought stress affects plant metabolites and herbivore preference but not host location by its parasitoids. *Oecologia* 177: 701-713. DOI 10.1007/s00442-014-3129-x
- Wellburn, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of plant physiology*, 144, 307-313.
- Witkowski ETF, Lamont BB (1991) Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* 88: 486-493. [https://doi.org/10.1016/S01761617\(11\)81192-2](https://doi.org/10.1016/S01761617(11)81192-2)
- Zanandrea I, Alves JD, Deuner S, Goulart PFP., Henrique PC, Silveira NM (2010) Tolerance of *Sesbania virgata* plants to flooding. *Aust J Bot* 57: 661-669. <https://doi.org/10.1071/BT09144>
- Zar JH (2010) *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall, New Jersey.
- Zhang H, Feng P, Yang W, Sui X, Li X, Li W, et al. (2018) Effects of flooding stress on the photosynthetic apparatus of leaves of two *Physocarpus* cultivars. *J For Res* 29: 10491059. <https://doi.org/10.1007/s11676-017-0496-2>
- Zimmermann TG, Andrade A, Richardson DM (2016) Experimental assessment of factors mediating the naturalization of a globally invasive tree on sandy coastal plains: a case study from Brazil. *AoB Plants*. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw042>



**Supplementary Figure 1:** Characterization of the study area. A - Overview and distance between the study areas, showing the non-flooded and flooded area (Google Earth). *Guarea guidonia* in flooded (B) and non-flooded (E) area; *Andira anthelmia* in flooded (C) and non-flooded (F) area; *Vernonanthura discolor* in flooded (D) and non-flooded (G) area (Personal collection).

## CAPÍTULO 2

### VARIAÇÃO INTRAESPECÍFICA NA ANATOMIA DA MADEIRA DE ESPÉCIES ARBÓREAS OCORRENTES EM ÁREAS ALAGADAS DA MATA ATLÂNTICA

#### 5. Variação intraespecífica na anatomia da madeira de espécies arbóreas ocorrentes em áreas alagadas da Mata Atlântica

##### 5.1 Resumo

No cenário atual de mudanças climáticas, vários biomas vêm sofrendo alterações substanciais em seus atributos edáficos. Desta maneira, grandes áreas de planícies vêm se tornando áreas potencialmente alagáveis. O alagamento de uma área acarreta grandes alterações nos atributos ambientais, como déficit de oxigênio, carregamento de nutrientes e pressões hídricas sobre as plantas. Contudo, algumas espécies conseguem sobreviver a estas condições, contornando esses problemas ambientais. Para isso é preciso desenvolver alterações em seus atributos anatômicos e essas alterações devem resultar em ajustes específicos que permitam com que estas espécies consigam sobreviver sob as condições de alagamento. Assim, o presente estudo visa investigar quais ajustes nos atributos anatômicos do lenho permitiram com que as espécies *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae), *Andira anthelmia* (Vell.) Benth. (Fabaceae) e *Vernonanthura discolor* (Spreng.) H. Rob. (Asteraceae) conseguissem habitar e se desenvolverem em ambientes alagados. As espécies não apresentaram um padrão de resposta convergente. *A. anthelmia* e *Vernonanthura discolor* mostram menores frequências de vasos, com maiores diâmetros tangencial e radial, fibras com maiores valores de diâmetro, comprimento e espessura da parede, além de maior comprimento de parênquima axial na área alagada. Já a espécie *G. guidonia* apresentou resultados divergentes em relação a essas espécies citadas, com maiores frequências de vasos, de menores diâmetros e comprimentos, fibras com menores valores de comprimentos e espessura da parede, e também parênquima radial com maiores valores na área alagada. Todos esses resultados nos permitem inferir que majoritariamente *G. guidonia* investiu em segurança como estratégia no seu desenvolvimento no ambiente alagado, enquanto *A. anthelmia* e *V. discolor* investiram em eficiência sob as mesmas condições. Os resultados observados refletem a íntima relação das plantas com a disponibilidade hídrica e mostram como a relação segurança/eficiência do transporte hídrico é modulada pela anatomia da madeira. Deste modo, as aclimações de atributos desenvolvidas podem estar relacionadas diretamente com as condições impostas pelo alagamento, e permitindo inferir que as espécies estudadas desenvolveram esses ajustes a fim de contornarem problemas relacionados ao excesso de água e aos déficits de oxigênio ocorridos neste ambiente.

**Palavras-chave:** Alagamento, Plasticidade Fenotípica, Aclimação, Anatomia do lenho.

## 5.2 Abstract

Several biomes have been undergoing substantial changes in their edaphic attributes in the current climate change scenario. In this way, large areas of plains are becoming potentially floodable areas. The flooded of an area causes significant changes in environmental attributes, such as oxygen deficit, nutrient loading, and water pressure on plants. However, some species survive these conditions, bypassing these environmental problems. For this, it is necessary to develop changes in their anatomical attributes, and these changes must result in specific adjustments that allow these species to survive under flooded conditions. Thus, the present study aims to investigate which adjustments in the anatomical attributes of the wood allowed the species *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae), *Andira anthelmia* (Vell.) Benth. (Fabaceae) and *Vernonanthura discolor* (Spreng.) H. Rob. (Asteraceae) were able to inhabit and develop in flooded environments. Species did not show a convergent response pattern. *A. anthelmia* and *Vernonanthura discolor* show lower vessel frequencies, with greater tangential and radial diameters, fibers with greater values of diameter, length, and wall thickness, in addition to the greater length of axial parenchyma in the flooded area. *G. guidonia* shows divergent results to these mentioned species, with higher vessels frequencies, smaller diameters and lengths, fibers with lower values of length and wall thickness, and radial parenchyma with higher values in the flooded area. All these results allow us to infer that most *G. guidonia* invested in safety as a strategy for its development in the flooded environment, while *A. anthelmia* and *V. discolor* invested in efficiency under the same conditions. These results reflect the close relationship of plants with water availability and show how the wood anatomy modulates the safety/efficiency relationship of water transport. Thus, the developed acclimatized attributes may be directly related to the conditions imposed by the flooded, allowing inferring that the studied species developed these adjustments to overcome problems related to excess water and oxygen deficits occurring in this environment.

Keywords: Flooded, Phenotypic Plasticity, Acclimatization, Wood Anatomy.

### 5.3 Introdução

As mudanças climáticas sugerem que eventos de inundação podem ocorrer de forma mais frequente a cada ano. As inundações ocasionam mudanças nos caracteres fitogeográficos do ecossistema, e com isso, a cobertura vegetal original sofre grandes modificações, formando pequenas áreas de campos e capoeiras (Esser, Neves e Jarenkow, 2019). Ademais, eventos de inundação do solo em grande escala acabam alterando as características do ambiente, proporcionando condições negativas ao desenvolvimento da planta (Bellard et al., 2014).

A presença de áreas inundadas torna um obstáculo à colonização de espécies ao ambiente (Mustroph, 2018). Nas áreas susceptíveis a inundações ocorre diminuição das trocas gasosas entre o solo e a atmosfera, supressão de oxigênio e déficit de nutrientes essenciais ao desenvolvimento das plantas. Nas condições de anoxia a concentração interna de O<sub>2</sub> decresce drasticamente, e conseqüentemente, o alagamento acaba impondo pressão sobre as plantas, cuja intensidade e duração são imprevisíveis (Walter, 2020). Contudo, muitas espécies vegetais acabam desenvolvendo respostas aclimatativas que evitam a hipóxia, criando mecanismos estratégicos de respostas ao alagamento (Lan et al., 2020).

Desta forma, as espécies tiveram que desenvolver estratégias para sobreviver às condições impostas pelo ambiente, permitindo afirmar que estas desenvolveram algum grau de plasticidade em seus atributos anatômicos (Brotherton et al., 2019). De acordo com Stotz et al (2021) a capacidade de um indivíduo alterar suas características anatômicas em resposta a variação ambiental é chamada de plasticidade fenotípica. Através desta, os indivíduos conseguem alterar suas características anatômicas com respostas específicas as mudanças ocorridas no ambiente (Valladares et al., 2000; 2006). Este fato indica que plantas presentes em ambientes com solo saturado com supressão de recursos, e falta total ou parcial de oxigênio, por exemplo, desenvolvem alterações em suas características anatômicas, tendendo a ampliarem respostas específicas as condições estabelecidas no ambiente alagado (Szabó et al., 2018).

Neste sentido, as investigações anatômicas podem ser uma abordagem útil para a compreensão das mudanças estruturais das plantas sujeitas a mudanças ambientais em seus habitats naturais (Bongers et al., 2017). Análises da estrutura e função da madeira se tornam essenciais para o entendimento e compreensão dos mecanismos aclimatativos das espécies de plantas, além de auxiliarem no manejo de coleta de informações sobre as diferentes espécies em resposta ao alagamento e, conseqüentemente, colonização dessas espécies em um ambiente hipóxico (Burgess-Gamble et al., 2018).

Nesse contexto, o objetivo deste estudo foi realizar análises comparativas dos atributos anatômicos da madeira das espécies arbóreas que são encontradas tanto em ambientes permanentemente alagados quanto em ambientes não alagados na Mata Atlântica, a saber: *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae), *Andira anthelmia* (Vell.) Benth. (Fabaceae) e *Vernonanthura discolor* (Spreng.) H. Rob. (Asteraceae). Todas estas espécies coocorrem em Floresta Ombrofila Densa, e este estudo buscou identificar os estresses impostos pelo alagamento, relacionando o efeito do alagamento sobre as características anatômicas da madeira nestas espécies. E a partir disso, avaliar quais foram as estratégias adaptativas que as espécies desenvolveram para sobreviver na área alagada, e o quanto essas estruturas variaram. Desta maneira, a identificação prévia e detalhada das características anatômicas analisadas fornece informações acerca de mecanismos estratégicos de espécies vegetais tolerantes às áreas alagadas, sendo informações preponderantes no manuseio e adequações de previsões de serviços ambientais em áreas potencialmente alagadas.

## **5.4 Material e Metodos**

### **5.4.1 Área de estudo**

O estudo foi realizado na Reserva Biológica Poço das Antas (RBPA) (22°33`S e 42° 19`W). A RBPA localiza-se na região das baixadas litorâneas do estado do Rio de Janeiro, no município de Silva Jardim (Figura 1). Esta região está sob influência direta da bacia hidrográfica do rio São João (Lima et al., 2006), abrangendo uma área de 5.160 hectares e contém duas áreas geomorfológicas distintas: várzeas (temporariamente ou permanentemente inundadas) e os morrotes de 19 - 200 m de altura (Moraes et al., 2006). O clima da região é quente e úmido (Aw, de acordo com a classificação de Köppen), com uma precipitação anual média de aproximadamente 1.900 mm e temperatura média anual de 25.5 °C (Lima et al., 2006; Moraes et al., 2006; Alvares et al., 2012). Variações microclimáticas entre os dois sítios de coleta foram avaliadas para temperatura e umidade relativa do ar, com uso de termohigrômetro (HT-30, Intrutherm, Brasil), e para irradiância solar, com uso de um radiômetro (LI-250A, Li-Cor Inc., EUA). Os dados microclimáticos foram obtidos a 1,30 m do solo, em cada direção cardinal, ao redor das árvores entre 11h30m e 12h00m (Tabela 1).

**Tabela 1:** Caracterização das condições ambientais entre as áreas não alagada e alagada.

<b>Dados Microclimáticos</b>	<b>Não Alagada</b>	<b>Alagada</b>
<b>Irradiança Média (<math>\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}</math>)</b>	<b>53.5 <math>\pm</math> 12.8</b>	<b>80.4 <math>\pm</math> 50.9</b>
<b>Temperatura (<math>^{\circ}\text{C}</math>)</b>	<b>29.8 <math>\pm</math> 6.5</b>	<b>30.1 <math>\pm</math> 7.7</b>
<b>Umidade (%)</b>	<b>57.5 <math>\pm</math> 24.0</b>	<b>58.2 <math>\pm</math> 16.5</b>

De acordo com Lima et al. (2006), a cobertura vegetal da Rebio é caracterizada como Floresta Ombrófila Densa. Este tipo de vegetação foi subdividido em cinco formações obedecendo a uma hierarquia topográfica e fisionômica: floresta altomontana, floresta montana, floresta submontana, floresta de terras baixas e floresta aluvial. O estudo foi feito na floresta de terras baixas, em duas áreas da Reserva Biológica Poço das Antas (Rebio Poço das Antas), uma área não alagada (morrote) e outra alagada (várzea). Essas áreas encontram-se separadas por aproximadamente 30 metros de distância (Figura 1).



**Figura 1:** Caracterização da área de estudo. A: Visão geral e distância entre as áreas de estudo, demonstrando a área não alagada e alagada. Em B - Espécies submetidas ao regime de alagamento; C - Espécies fora do regime de alagamento (área não alagada).

#### 5.4.2 Seleção das espécies

Espécies arbóreas que ocorriam concomitantemente na área alagada e não alagada foram selecionadas (Tabela 2), com base nos inventários realizados por Guedes-Bruni (2006) e pelo banco de dados do programa Mata Atlântica/Jardim Botânico do Rio de Janeiro. As três espécies selecionadas foram: *Guarea guidonia* (L.) Sleumer (Meliaceae) – arbórea, altura média = 4 Metros alagado e 6 Metros não alagado, DAP = 55 centímetros alagado e 70 centímetros não alagado; *Andira anthelmia* (Vell.) Benth. (Fabaceae) – arbórea, altura média = 5 Metros alagado e 7 Metros não alagado, DAP = 50 centímetros alagado e 65 centímetros não alagado; *Vernonanthura discolor* (Spreng.) H. Rob. (Asteraceae) – arbórea, altura média = seis metros alagado e oito metros não alagado, DAP = 58 centímetros alagado e 63 centímetros não alagado. As espécies deste estudo são caracterizadas por apresentarem ampla distribuição geográfica (Flores, 2020). Estas

espécies são endêmicas do Brasil e podem ser encontradas em diferentes regiões, sendo espécies importantes ao ponto de vista ecológico e econômico: *G. guidonia* usada no madeireiro para construção civil e naval; *A. anthelmia* por fornecer propriedades anti-helmíntico e prevenção de parasitores; e *V. discolor* usada em caixotaria, aglomerados, e paines industriais (Carvalho et al., 2006).

#### **5.4.3 Processamento do lenho**

Amostras do lenho foram coletadas de cinco indivíduos selecionados para cada espécie nas duas áreas de estudo, por método não destrutível, utilizando trado de incremento. Essas coletas foram realizadas a aproximadamente 1.30 m acima do solo. As amostras do lenho, na região do cerne, foram seccionadas em micrótomo de deslize (SM2010 R, LEICA, Alemanha) nas seções transversais e longitudinais (radiais e tangenciais) com uma espessura média de 15 µm. O material seccionado foi clarificado em hipoclorito de sódio 50%, e, posteriormente, desidratado em série crescente de etanol e corados com azul de Astra e safranina hidroalcoólica (Johansen, 1940). Subseqüentemente, as seções foram imersas em xilol e montadas em lâminas permanentes com Entellan® (Burger e Richter, 1991).

Para a obtenção do macerado, os corpos de prova do lenho de cada espécie foram submetidos à solução de Franklin (Kraus e Arduin, 1997), e colocados em estufa a 60 °C até o material começar a se desintegrar. Após esse procedimento, o material foi corado com safranina aquosa, e montado em lâminas semipermanentes com solução aquosa de glicerina. A partir desses processamentos foram avaliados os seguintes atributos anatômicos do lenho: 1. Secção transversal: frequência de vasos por mm<sup>2</sup>, diâmetro tangência e radial dos vasos, e área do lúmen dos vasos; 2. Secção longitudinal tangencial: frequência de parênquima radial por mm<sup>2</sup>, comprimento e largura dos parênquimas radiais, pontoações raio-vasculares e intervasculares, comprimento e número de células dos parênquimas axiais; 3. Secção longitudinal radial: pontoações raio-vasculares; 4. Macerado: comprimento dos vasos, comprimento, diâmetro, lúmen, espessura da parede, e pontoações das fibras. Para mensurar esses atributos foram obtidas imagens em microscópio óptico de campo claro (Axioplan, ZEISS, Germany), acoplado ao sistema de captura de imagem (Moticam Pro 282B, Hong Kong). As imagens obtidas foram então processadas utilizando o software Image-Pro Plus 4.0. Todas as descrições e quantificações celulares do lenho foram realizadas seguindo as regras estabelecidas pelo IAWA Committee (1989).

#### 5.4.4 Análise estatística

A análise de variância (ANOVA) foi realizada para avaliar as diferenças nas características anatômicas entre as espécies, seguido pelo teste post hoc de Tukey para revelar como as espécies diferem significativamente umas das outras ao nível de confiança de  $p < 0,05$ . As análises estatísticas foram realizadas em R ambiente v. 3.2.0 (R Core Team 2014). Para reconhecer os padrões predominantes para as espécies desta comunidade, uma análise de componentes principais (PCA) foi realizada em uma matriz com anatomia funcional caracterizadas em colunas e unidades de amostra (indivíduo / espécie) em linhas, usando o software PC-ORD versão 6.0 (McCune e Mefford, 2011).

A partir dos valores anatômicos obtidos calcularam-se os índices de vulnerabilidade (IV), mesomorfia (IM) e agrupamento de vasos (IAV), de acordo com Carlquist (1977).

Para tanto foram empregadas as expressões:

$$IV = \frac{\sum DV}{\sum FV} \quad IM = \frac{IV}{\sum CEV} \quad IAV = \frac{FV}{AV}$$

Em que: *IV* = índice de vulnerabilidade; *IM* = índice de mesomorfia; *IAV* = índice de agrupamento de vasos; *DV* = diâmetro dos vasos; *FV* = frequência dos vasos; *CV* = comprimento dos elementos de vaso; *AV* = agrupamento dos vasos (solitários, geminados, múltiplos de 3 e múltiplos de 4 ou mais).

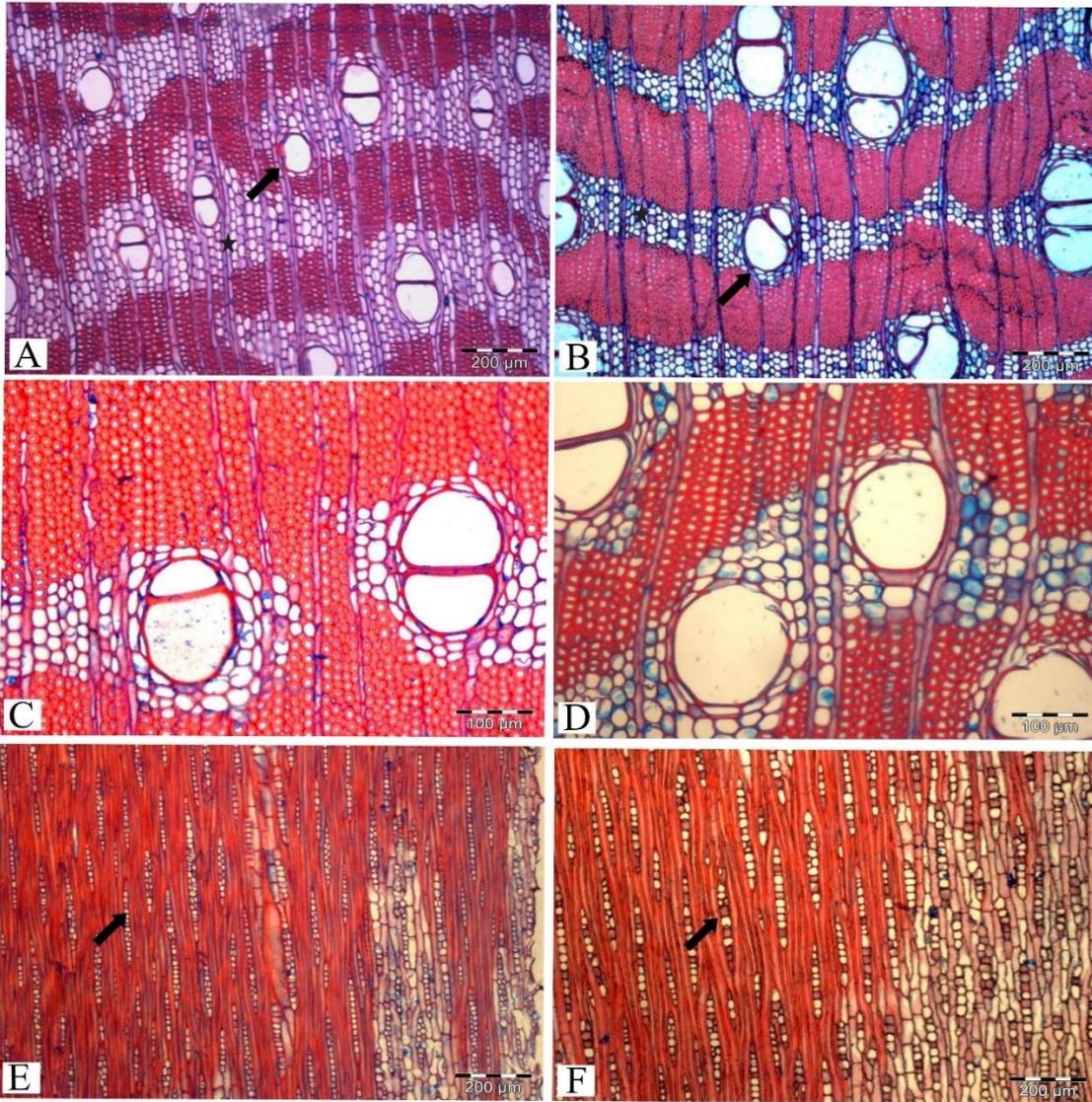
## 5.5 Resultados

### 5.5.1 Atributos anatômicos do lenho

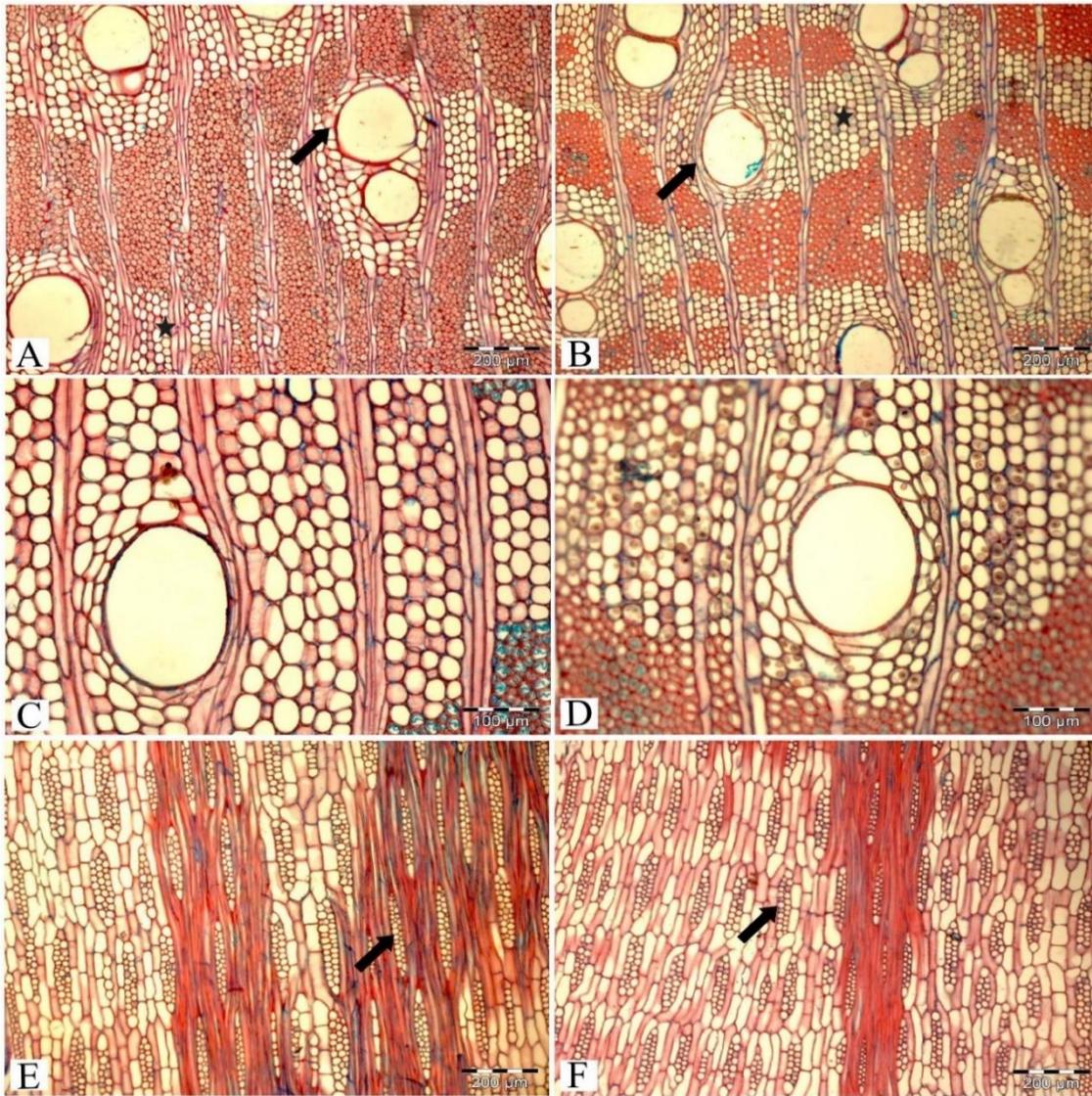
As espécies estudadas mostram diferenças significativas para quase todos os atributos anatômicos do lenho entre a área alagada e a área não alagada, contudo não houve um padrão de respostas entre as espécies (Tabela 2; Figuras 2, 3 e 4). Desta forma a espécie *Guarea guidonia* apresentou maiores valores de frequência dos vasos  $\text{mm}^2$  na área alagada, visto que, *Andira anthelmia* e *Vernonanthura discolor* apresentaram maiores valores na área não alagada. Para o comprimento dos vasos *A. anthelmia* apresentou maiores valores na área alagada, enquanto *V. discolor* apresentou maiores valores na área não alagada. Já os parâmetros de diâmetro radial e tangencial e de área do lúmen, *G. guidonia* mostrou maiores valores na área não alagada, enquanto *A. anthelmia* mostrou maiores valores na área alagada. Quanto à espessura da parede dos vasos, apenas a espécie *V. discolor* apresentou maiores valores na área alagada (Tabela 2; Figuras 2, 3 e 4).

Em relação ao comprimento das pontoações intervasculares e raio-vasculares foram observados valores significativamente maiores na área alagada para as espécies *Andira anthelmia* e *Vernonanthura discolor* quando compado com as pontoações nos vasos nas espécies da área não alagada (Tabela 2; Figuras 2, 3 e 4). Contudo em relação as pontoações parênquima-vasculares não foram observadas um padrão, sendo que *Guarea guidonia* apresentou maiores valores na área não alagada, e *V. discolor* apresentou maiores valores na área alagada (Tabela 2; Figuras 2, 3 e 4).

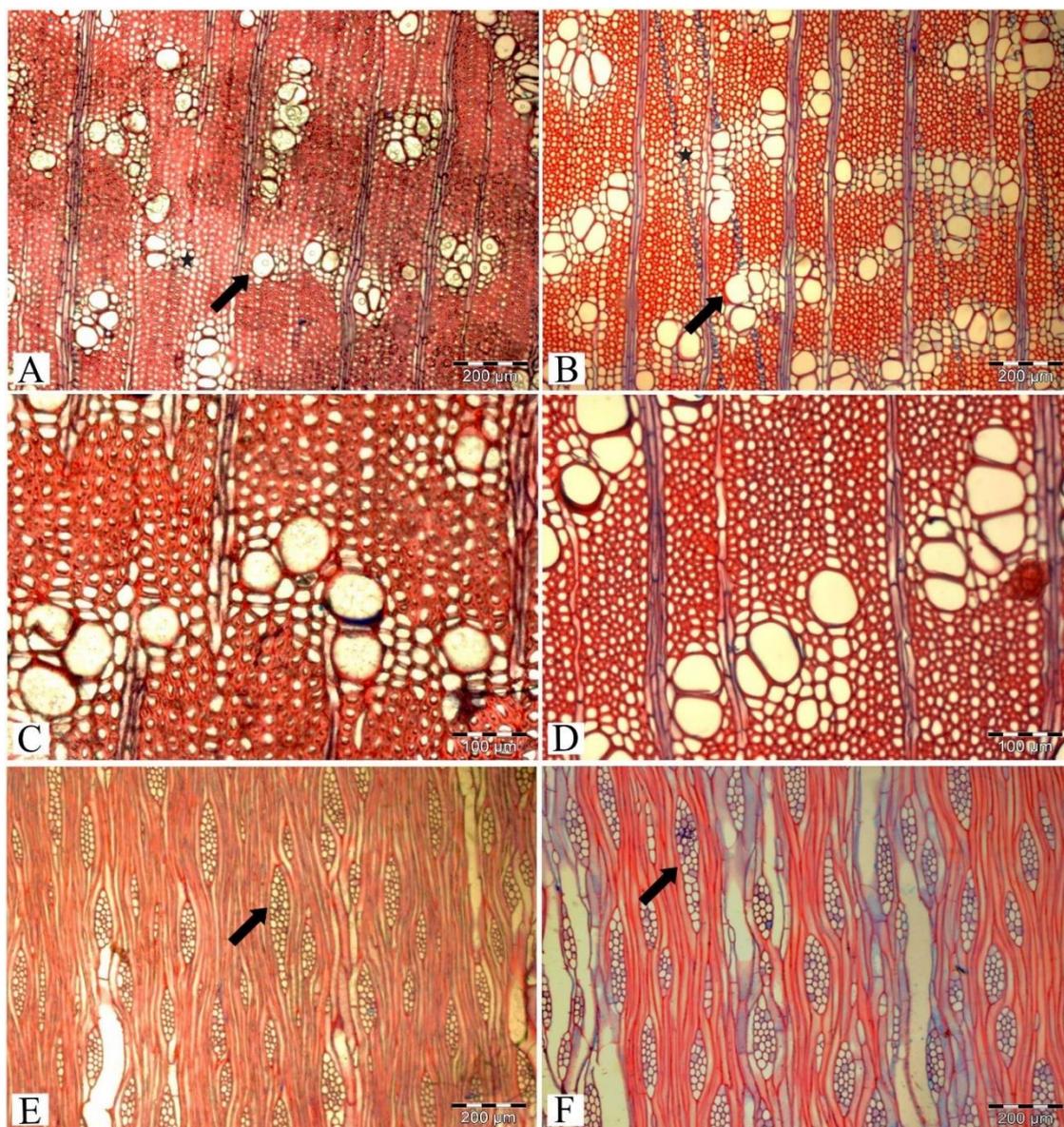
Quanto ao diâmetro e lúmen das fibras, apenas a espécie *Vernonanthura discolor* apresentou diferenças significativas, com fibras de maiores diâmetros e menores áreas de lúmen na área alagada. Já para os atributos comprimento, espessura da parede e pontoações das fibras foram observados valores significativamente maiores para a espécie *Guarea guidonia* na área não alagada, visto que para a espécie *V. discolor* esses valores se mostram maiores na área alagada (Tabela 2; Figuras 2, 3 e 4). Em relação à frequência do parênquima radial apenas a espécie *G. guidonia* apresentou valores significativos maiores na área alagada (Tabela 2; Figuras 2, 3 e 4). Em contrapartida para o parênquima axial, apenas a espécie *Andira anthelmia* apresentou valores significativos maiores na área alagada (Tabela 2; Figuras 2, 3 e 4). Os resultados mostram investimento na construção de diferentes tecidos nas plantas, sendo estratégias interespecíficas, não apresentando assim um padrão de respostas entre as áreas de estudo.



**Figura 2:** Anatomia do lenho de *Guarea guidonia*, na área alagada e não alagada. A, C e E – alagada. B, D e F – não alagada. A e B – Secção transversal, vasos solitários (seta). C e D – Elemento de vasos em destaque mais próximos. E e F Secção longitudinal tangencial, mostrando o parênquima radial (seta). Barras: A, B, E e F – 200 µm; C e D – 100 µm.



**Figura 3:** Anatomia do lenho de *Andira anthelmia*, na área alagada e não alagada. A, C e E – alagada. B, D e F – não alagada. A e B – Secção transversal, vasos solitários (seta). C e D – Elemento de vasos em destaque mais próximos. E e F Secção longitudinal tangencial, mostrando o parênquima radial (seta). Barras: A, B, E e F – 200 µm; C e D – 100 µm.



**Figura 4:** Anatomia do lenho de *Vernanthura discolor*, na área alagada e não alagada. A, C e E – alagada. B, D e F – não alagada. A e B – Secção transversal, vasos solitários (seta). C e D – Elemento de vasos em destaque mais próximos. E e F Secção longitudinal tangencial, mostrando o parênquima radial (seta). Barras: A, B, E e F – 200 µm; C e D – 100 µm.

### 5.5.2 Índice de vulnerabilidade e mesomorfia

Com a análise dos índices de vulnerabilidade e mesomorfia, foi possível observar que as espécies *Vernanthura discolor* e *Andira anthelmia* apresentaram maiores valores na área alagada, visto que *Guarea guidonia* apresentou esses maiores valores na área não alagada (Tabela 2). Os valores de vulnerabilidade na área alagada variaram entre 2,8 a 90,0 e o de mesomorfia entre 774,1 a 25.249,7, enquanto na área não alagada a vulnerabilidade variou entre 2,5 a 43,9 e o de mesomorfia entre 593,2 a 18.847,6 (Tabela 2). *V. discolor* apresentou os menores valores para esses índices, enquanto *A. anthelmia* apresentou os maiores valores (Tabela 2).

**Tabela 2:** Valores médios ( $\pm$  desvio padrão) dos atributos funcionais do lenho das espécies *Guarea guidonia*, *Andira Anthelmia* e *Vernonathura discolor* entre as áreas Alagada e Não Alagada. Asterisco e valores em negrito indicam diferenças significativas entre os ecossistemas de restinga e floresta. (T-test,  $p \leq 0.05$ ).

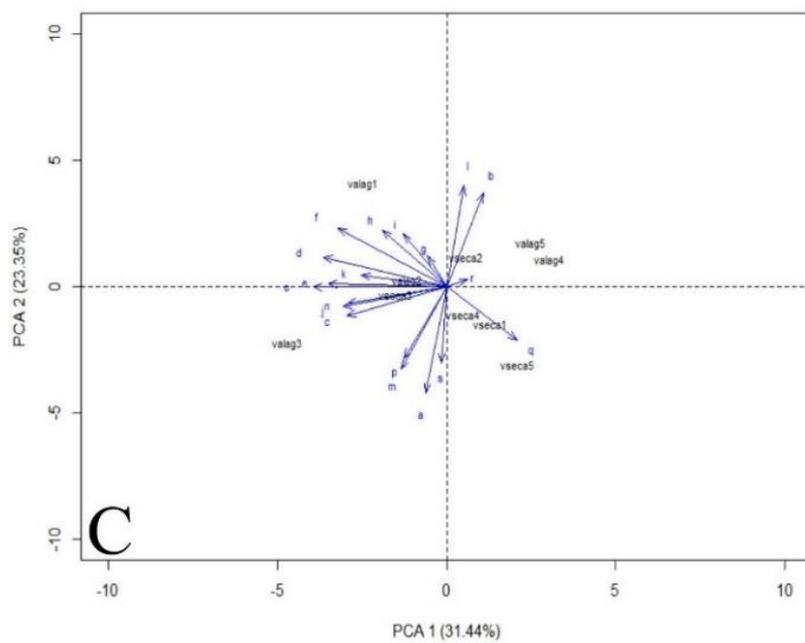
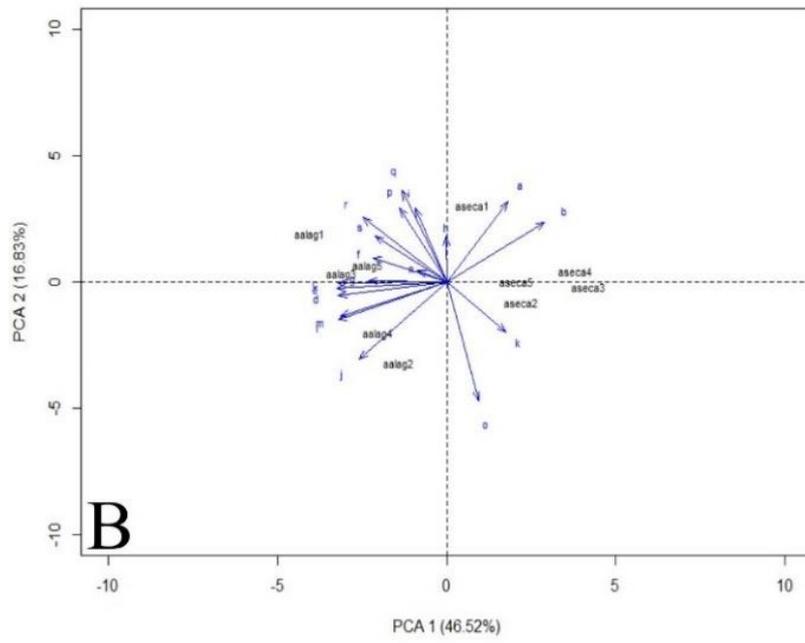
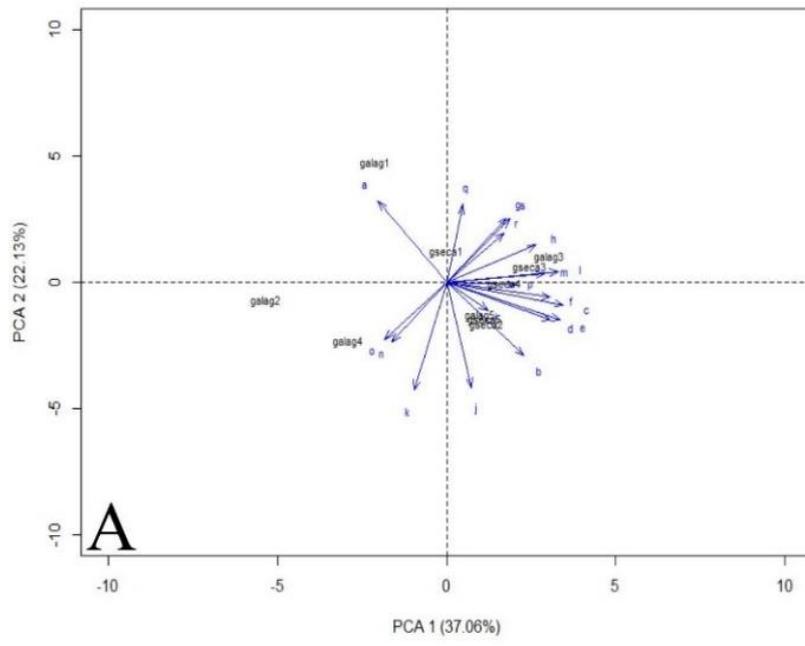
Atributos	<i>Guarea guidonia</i>				<i>Andira Anthelmia</i>				<i>Vernonathura discolor</i>			
	Alagado		Não Alagado		Alagado		Não Alagado		Alagado		Não Alagado	
<b>Elementos de vaso</b>												
<i>Frequência (vasos.mm<sup>2</sup>)</i>	<b>8</b>	$\pm$ 3,9*	6	$\pm$ 2	2	$\pm$ 1	<b>3</b>	$\pm$ 2,0*	21	$\pm$ 8	<b>24</b>	$\pm$ 7,0*
<i>Comprimento (<math>\mu</math>m)</i>	488,3	$\pm$ 111,0	516,8	$\pm$ 91,5	280,5	$\pm$ 40,0	<b>429,2</b>	$\pm$ 106,8*	<b>280,3</b>	$\pm$ 93,3*	238,3	$\pm$ 43,3
<i>Diametro tangencial (<math>\mu</math>m)</i>	111,8	$\pm$ 33,5	<b>128,9</b>	$\pm$ 26,7*	<b>198,7</b>	$\pm$ 25,8*	133,1	$\pm$ 28,4	58,6	$\pm$ 11,0	59,6	$\pm$ 10,7
<i>Diametro radial (<math>\mu</math>m)</i>	126,0	$\pm$ 33,0	<b>162,0</b>	$\pm$ 40,8*	<b>246,4</b>	$\pm$ 37,9*	166,1	$\pm$ 38,6	62,9	$\pm$ 12,8	61,5	$\pm$ 11,8
<i>Área do lumen (<math>\mu</math>m<sup>2</sup>)</i>	13650,0	$\pm$ 7396,1	<b>19354,3</b>	$\pm$ 7356,9*	<b>42177,4</b>	$\pm$ 10968,1*	19879,4	$\pm$ 8467,8	3494,6	$\pm$ 1206,0	3479,5	$\pm$ 1211,9
<i>Espessura da parede (<math>\mu</math>m)</i>	6,6	$\pm$ 1,4	6,8	$\pm$ 1,3	6,9	$\pm$ 1,4	6,4	$\pm$ 1,4	<b>4,7</b>	$\pm$ 1,3*	4,2	$\pm$ 1,0
<b>Pontoções (<math>\mu</math>m)</b>												
<i>Intervascular (<math>\mu</math>m)</i>	3,6	$\pm$ 0,5	3,7	$\pm$ 0,6	<b>8,7</b>	$\pm$ 1,4*	7,5	$\pm$ 1,2	<b>3,0</b>	$\pm$ 0,8*	2,1	$\pm$ 0,4
<i>Raio-vascular (<math>\mu</math>m)</i>	3,0	$\pm$ 1,1	3,4	$\pm$ 0,6	7,8	$\pm$ 1,3	7,5	$\pm$ 1,4	<b>3,5</b>	$\pm$ 0,8*	2,6	$\pm$ 0,7
<i>Parênquima-vascular (<math>\mu</math>m)</i>	3,0	$\pm$ 0,5	<b>3,6</b>	$\pm$ 0,6*	7,1	$\pm$ 1,5	6,9	$\pm$ 1,5	<b>3,8</b>	$\pm$ 0,8*	2,1	$\pm$ 0,5
<b>Fibras</b>												
<i>Diametro (<math>\mu</math>m)</i>	18,0	$\pm$ 2,2	18,2	$\pm$ 2,5	<b>23,9</b>	$\pm$ 4,1*	19,7	$\pm$ 2,3	20,2	$\pm$ 3,6	20,5	$\pm$ 3,4
<i>Lumen (<math>\mu</math>m)</i>	9,9	$\pm$ 2,5	9,3	$\pm$ 1,9	9,8	$\pm$ 3,5	<b>11,2</b>	$\pm$ 2,1*	11,6	$\pm$ 3,3	12,1	$\pm$ 3,0
<i>Comprimento (<math>\mu</math>m)</i>	981,0	$\pm$ 197,8	<b>1093,0</b>	$\pm$ 178,3*	<b>1159,4</b>	$\pm$ 173,3*	915,5	$\pm$ 193,3	685,6	$\pm$ 250,3	630,9	$\pm$ 226,8
<i>Espessura da parede (<math>\mu</math>m)</i>	4,1	$\pm$ 0,9	<b>4,5</b>	$\pm$ 0,9*	<b>7,0</b>	$\pm$ 1,3*	4,2	$\pm$ 0,6	4,3	$\pm$ 1,2	4,2	$\pm$ 1,0
<i>Pontoções (<math>\mu</math>m)</i>	3,5	$\pm$ 1,0	3,3	$\pm$ 1,9	<b>5,9</b>	$\pm$ 2,1*	5,3	$\pm$ 2,2	2,2	$\pm$ 0,8	2,0	$\pm$ 0,6
<b>Parênquima-radial</b>												
<i>Frequência (rays.mm<sup>2</sup>)</i>	<b>7</b>	$\pm$ 1,7*	6	$\pm$ 2	5	$\pm$ 1	5	$\pm$ 1	4	$\pm$ 1	3	$\pm$ 1
<i>Comprimento (<math>\mu</math>m)</i>	234,7	$\pm$ 62,4	227,1	$\pm$ 54,3	215,5	$\pm$ 47,0	201,3	$\pm$ 32,3	181,0	$\pm$ 47,0	180,8	$\pm$ 50,8
<i>Largura (<math>\mu</math>m)</i>	22,5	$\pm$ 6,2	20,6	$\pm$ 5,5	36,2	$\pm$ 9,8	34,0	$\pm$ 11,7	35,3	$\pm$ 8,8	36,4	$\pm$ 10,8
<b>Parênquima axial</b>												
<i>Comprimento (<math>\mu</math>m)</i>	490,1	$\pm$ 90,7	493,8	$\pm$ 108,8	<b>363,0</b>	$\pm$ 99,2*	312,3	$\pm$ 66,9	342,5	$\pm$ 163,5	355,8	$\pm$ 141,1
<i>Nº de células</i>	5,4	$\pm$ 1,4	5,2	$\pm$ 1,5	<b>3,9</b>	$\pm$ 1,4*	3,4	$\pm$ 1,2	3,0	$\pm$ 1,3	3,1	$\pm$ 1,5
<b>Vulnerabilidade</b>	13,7		22,1		90,0		43,9		2,8		2,5	
<b>Mesomorfia</b>	6707,8		11403,2		25249,7		18847,6		774,1		593,2	

### 5.5.3 Análise dos componentes principais (PCA)

Para a espécie *Guarea guidonia* (Figura 5-A), a análise de componentes principais (PCA) explicou 59% da variação total no conjunto de dados, com 37,01% pelo primeiro componente principal (PC1), e 22,13% pelo segundo (PC2) (Figura 5-A). PC1 foi influenciado pelo comprimento dos vasos (b), diâmetro radial dos vasos (c) diâmetro tangencial dos vasos (d), área do lúmen dos vasos (e), espessura da parede dos vasos (f), pontoações raio-vasculares das fibras (h), comprimento das fibras (l), espessura da parede das fibras (m) e comprimento dos raios (p). PC2 foi influenciado principalmente pela frequência dos vasos  $\text{mm}^2$  (a), pontoações intervasculares (g), largura dos raios (q) e número de células do parênquima axial (s).

Para a espécie *Andira anthelmia* (Figura 5-B), a análise de componentes principais (PCA) explicou 63,35% da variação total no conjunto de dados, com 46,52% pelo primeiro componente principal (PC1), e 16,83% pelo segundo (PC2) (Figura 5-B). O PC1 foi influenciado principalmente pelo comprimento dos vasos. E PC2 foi influenciado pela frequência dos vasos  $\text{mm}^2$  (a), diâmetro tangencial dos vasos (d), comprimento dos raios (p), largura dos raios (q) e número de células do parênquima axial (s).

Já para a espécie *Vernonanthura discolor* (Figura 5-C), a análise de componentes principais (PCA) explicou 54,79 % da variação total no conjunto de dados, com 31,44% pelo primeiro componente principal (PC1), e 23,35% pelo segundo (PC2) (Figura 5-B). O PC1 foi influenciado principalmente pela largura dos raios (q). E o PC2 foi influenciado pelo comprimento dos vasos (b), espessura da parede dos vasos (f), pontoações raio-vasculares das fibras (h), pontoações parênquima-vascular (i) e comprimento das fibras (l).



**Figura 5.** Análise de componentes principais (PCA) para as espécies: A - *Guarea guidonia*, B - *Andira Anthelmia* e C - *Vernonathura discolor*. a - Frequência dos Vasos; b – Comprimento dos Vasos; c – Diâmetro Tangencial dos Vasos; d – Diâmetro Radial dos Vasos; e – Área do Lumen dos Vasos; f – Espaçamento da Parede dos Vasos; g – Pontoações Intervascular; h – Pontoações Raio-Vaso; i – Parênquima Vascular; j – Diâmetro das Fibras; k – Lumen das Fibras; l – Comprimento das Fibras; Espessura da Parede das Fibras; m – Espessura da Parede das Fibras; n – Pontoações das Fibras; o – Frequência dos Raios; p – Comprimento dos Raios; q – Largura dos Raios; r – Comprimento Parênquima Axial; s – N° de Células Parênquima Axial.

Essas características permitiram entender que para as espécies *Guarea guidonia* (Figura 5-A) e *Vernonanthura discolor* (Figura 5-C) não apresentaram um padrão de separação em grupos em detrimento das áreas do estudo, já para a espécie *Andira anthelmia* (Figura 5-B), esses atributos permitiram a separação de dois grupos de acordo com as diferenças ambientais entre a área alagada e não alagada (Figura 5-C).

## 5.6 Discussão

Com a análise anatômica do lenho foi possível constatar que as espécies *Guarea guidonia*, *Andira anthelmia* e *Vernonanthura discolor* desenvolveram mecanismos diferentes e específicos em relação aos ambientes e essas mudanças envolveram alterações nos atributos anatômicos da madeira. A plasticidade fenotípica permite entender quais foram as principais estratégias que permitiram com que essas espécies conseguissem sobreviver e habitar no ambiente alagado (Garavillon-Tournayre et al., 2017; Stotz et al., 2021). Ademais, espécies vegetais submetidas aos ambientes com alta disponibilidade hídrica apresentam estruturas anatômicas especializadas na eficiência da condutividade de água, tais como: vasos com baixa frequência, grandes diâmetros tangencial e radial, maiores áreas de lúmen e espessura da parede (Zhang et al., 2016; Van Kleunen et al., 2007).

A inundação do solo pode induzir mudanças significativas na estrutura do lenho. Em ambientes com alta disponibilidade hídrica, os elementos de vasos tendem a diminuir a frequência por mm<sup>2</sup>, em contrapartida, tornam-se mais compridos, com diâmetros e área do lúmen maiores (Lawson, Fryirs e Leishman, 2015).

Os elementos de vasos mais compridos com maiores diâmetros podem transportar maiores quantidades de água, no entanto, são mais propensos à embolia. Em razão disso, espécies de ambientes com menor disponibilidade hídrica tendem a apresentar vasos menores com menores calibre, bem como em grande número, como forma de compensar a eficiência na condução hídrica (Wohl, 2019).

Neste estudo as espécies *Andira anthelmia* e *Vernonanthura discolor* seguem o padrão esperado para plantas em áreas alagadas. Para Addy e Wilkinson (2019), espécies em

solos inundados tendem a diminuir a frequência de vasos e aumentarem os diâmetros tangencial e radial. A menor frequência de elementos de vaso é típica de plantas em florestas tropicais alagadas. Como neste ambiente existe alta disponibilidade hídrica, não há a necessidade de desenvolver vasos com maiores especializações na condução hídrica (Nahorniak et al., 2018).

Contudo, *Guarea guidonia* não seguiu esse padrão, apresentando assim maior frequência de elementos de vasos com menores diâmetros no ambiente alagado. De acordo com Fischer et al. (2016), a presença de maior frequência de elementos de vasos com menores diâmetros em plantas alagadas tem sido verificada em algumas espécies. Por exemplo, Scogings e Sankaran (2019) mostram que algumas plantas sob alagamento apresentaram elementos de vaso mais estreitos.

Características como maior frequência de vasos, elementos de vaso estreitos e curtos, como menor área de lúmen proporciona maior segurança ao transporte de água em plantas (Fraaije et al., 2015). Garssen (2015) sugere que algumas espécies de florestas tropicais podem apresentar adaptações em suas características voltadas para a segurança na condução, priorizando adaptações que permitam o transporte mais seguro de volumes de água por unidade de tempo. De acordo com Colmer e Voesenek (2009), o menor diâmetro dificulta a embolia e garante o fluxo de água, uma vez que o alagamento pode acarretar redução na absorção de água pela planta (Brodersen, Knipfer e McElrone, 2017). Através desses parâmetros observados para a espécie *Guarea guidonia* é possível sugerir que esta desenvolveu seus atributos no sentido de proporcionar maior investimento em segurança do que em eficiência.

Os maiores valores de diâmetro das pontoações intervasculares, raio-vasculares e parênquimavasculares nas espécies *Andira. anthelmia* e *Vernonanthura discolor* no ambiente alagado corroboram com os resultados dos elementos de vasos citados acima, sendo um indicativo que essas espécies investiram no transporte lateral (Lucas et al., 2013). Essas espécies seguiram as tendências relacionadas com a frequência, o diâmetro radial e tangencial dos vasos, comprovando que *A. anthelmia* e *V. discolor* investiram na eficiência da condução hídrica, pois, maiores valores de diâmetros das pontoações indicam maiores alternativas e conectividades na condução de água. Este fato resulta em um transporte mais amplo e eficiente (Venturas, Sperry e Hacke, 2017).

Já os menores valores de diâmetro das pontoações apresentados por *Guarea guidonia* na área alagada podem ser interpretados como uma estratégia aclimatativa no sistema condutor para aperfeiçoar o transporte de água. Estas pontoações com menores diâmetros

promovem segurança, pois a tensão maior dentro dos vasos estreitos ajuda a desfazer possíveis embolismos, promovendo assim uma maior resistência a cavitação (Christman e Sperry, 2010). Deste modo, os resultados das pontuações em *G. guidonia* mostram-se como valor adaptativo estratégico para segurança na condução hídrica (Christman, Sperry, Smith, 2011).

As fibras são conferem força e rigidez a matriz do lenho (Almeida Souza et al, 2019). Os maiores valores de fibras com maiores diâmetros e maior comprimento encontrados nos indivíduos de *Andira anthelmia* na área alagada podem ser reflexos dos maiores valores encontrados de elementos de vaso para essa área, devido a tendências similares de estruturação dos tecidos. Essas tendências ocorrem através da integração do tamanho e arquitetura da árvore, conseqüentemente, ajustando a performance mecânica da planta (Maxwell et al, 2013). Em ambientes com maior disponibilidade hídrica, é possível observar plantas com fibras de maiores diâmetros, comprimentos e espessuras da parede, que em conjunto com elementos de vaso mais largos, acabam por proporcionar um maior suporte ao xilema secundário. Esses atributos aumentam a eficiência do transporte de água, comprovando que *A. anthelmia* na área alagada investiu mais em eficiência (Sasidharan et al, 2017).

Já a menor proporção de fibras com menores valores de diâmetro, de comprimento e de espessura da parede em *Guarea guidonia* no ambiente alagado mostra mais uma vez que essa espécie desenvolveu uma resposta positiva como resistência ao embolismo Este atributo sugere prevenção aos vasos vizinhos de sofrerem “implosão”, devido ao constante retorno de fluxo nos vasos ao longo do dia, garantindo maior segurança no transporte hídrico (Lens et al., 2013).

De acordo com Manvailier e Scremin-Dias (2020), o ambiente também pode influenciar a frequência, comprimento e largura dos raios. Neste presente estudo, somente *Guarea guidonia* no ambiente alagado apresentou maiores valores para frequência de raios. Geralmente plantas em ambientes alagados tendem a desenvolverem maiores frequências de raios visando qualificar o transporte radial do floema para o xilema. Esse transporte é considerado de grande importância na condução de água, trocas gasosas e fornecimento de metabólitos para o câmbio (Ferner, Rennenberg e Kreuzwieser, 2012). Além do mais, o parênquima radial pode promover a estocagem e transporte de nutrientes. Desta forma, o maior desenvolvimento desse tecido nesta espécie fornece uma vantagem adaptativa ao ambiente alagado, ambiente este com baixa concentração nutricional (Liu et al., 2017).

O parênquima axial desempenha funções muito semelhantes ao parênquima radial,

contudo é mais especializado, apresentando como principal função armazenar e mobilizar substâncias. Este tecido pode atuar também de forma subsidiária como um tecido de transporte a curtas distâncias ou de reserva de sais minerais (Sonsin et al., 2012). Desta maneira *Andira anthelmia* na área alagada teria desenvolvido maiores comprimentos e número de células deste tecido como uma ferramenta para armazenar e mobilizar nutrientes de forma mais especializada e eficiente (Alves e Angyalossy-Alfonso, 2000; Sonsin et al., 2012).

Os índices de vulnerabilidade e de mesomorfia desenvolvidos por Carlquist (1977) explicam a relação entre os vasos e o ambiente. Desta maneira, para vulnerabilidade valores mais baixos, são indicativos que a planta esteja investindo em segurança no transporte hídrico e é menos susceptível à cavitação em altas pressões negativas (Marcati, Angyalossy-Alfonso e Benetati, 2001; Jangid e Gupta, 2015). Já o índice de mesomorfia consiste no produto do índice de vulnerabilidade pelo comprimento dos elementos de vaso. Este índice demonstra a quão xeromórfica é a planta, assim, valores acima de 200 indicam que as plantas são mesomórficas (Jangid e Gupta, 2016). Neste estudo foi possível observar que no ambiente alagado somente *Guarea guidonia* apresentou menores valores de vulnerabilidade. Este fato permite inferir que esta espécie investiu em segurança, sendo menos vulnerável a sofrer embolia, uma vez que apresenta vasos menores e em maior frequência, diminuindo os riscos de propagação das bolhas de ar (Jangid e Gupta, 2017; Gupta e Gupta, 2020).

Para o índice de mesomorfia, todas as espécies mostram valores acima de 200 em ambas as áreas alagada e não alagada, esses valores revelam que as espécies desse estudo apresentam características mesomórficas. Contudo ainda foi possível observar que as espécies *Andira anthelmia* e *Vernonanthura discolor* apresentaram índices de mesomorfia maiores na área alagada quando comparadas a área não alagada. Já *G. guidonia* apresentou menores valores na área alagada, indicando que esses indivíduos podem ser menos susceptíveis a sofrerem possíveis cavitações, comprovando o investimento desta espécie em segurança (Jangid e Gupta, 2016; Alemán-Sancheschúlz et al., 2020). Já os valores observados para as espécies *A. anthelmia* e *V. discolor* nos permitem sugerir que estas preferiram investir em eficiência na condução hídrica.

Através da análise de componentes principais (PCA) dos atributos do lenho foi possível separar em dois grupos a espécie *A. anthelmia* (área alagada e área não alagada). Para as espécies *V. discolor* e *G. guidonia*, por mais que os resultados demonstrassem diferenças significativas entre as áreas, com a análise de PCA não foi possível separar os indivíduos entre as áreas alagadas e não alagadas.

## 5.7 Conclusão

Através das análises dos atributos anatômicos do lenho, foi possível observar que as diferenças ambientais contrastantes entre as áreas alagada e não alagada promoveram a seleção das espécies. De modo que, as espécies que colonizam o ambiente alagado necessariamente desenvolvem ajustes anatômicos para sobreviverem sob as condições impostas pelo ambiente.

Este estudo mostrou que características como diâmetro, comprimento e frequência de vasos, pontuações vasculares, diâmetro, comprimento e espessura da parede das fibras, frequência, comprimento e largura dos raios, distribuição e arranjo do parênquima axial podem variar conforme o ambiente. Estudos no âmbito de identificação e entendimento se tornam de suma importância para observar as tendências relacionadas aos diferentes ambientes. Desta maneira, foi possível observar que não ocorreu um padrão de respostas convergentes para as três espécies, os resultados mostram espécies investindo em atributos específicos, seja aumentando o tecido, ou diminuindo. Contudo, os resultados revelaram ainda que as espécies *A. anthelmia* e *V. discolor* na área alagada investiram majoritariamente em eficiência na condução hídrica, desenvolvendo tecidos no sentido que abastecerem suas áreas de uma forma mais rápida. Enquanto, em *G. guidonia* foi possível observar o desenvolvimento de aclimações no sentido de promoverem maior segurança na distribuição hídrica, desenvolvendo tecidos mais especializados no sentido de impedirem possíveis embolismos.

A partir dos dados apresentados nesse estudo, é possível entender que as espécies mesmo sofrendo o mesmo tipo de pressão seletiva, podem desenvolver diferentes estratégias anatômicas aclimatativas no lenho no que tange ao alagamento. O levantamento dessas informações se torna uma premissa em ações de restauração ecológicas, aumentando assim o sucesso de ações ecológicas em áreas alagadas.

**Agradecimentos:** Este trabalho foi apoiado pela Fundação de Apoio à Pesquisa no Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001 e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); ao Centro Multiusuário de Microscopia Avançada do LBCT/CBB pela infraestrutura fornecida; B. F. Ribeiro pelo trabalho técnico no LBCT / CBB / UENF. A licença para a realização deste estudo foi concedida junto a SISBIO n.º 62752. Este estudo faz parte da tese do N.L.B. no Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia/UENF.

## 6.Referências

- Addy S & Wilkinson (2019) Representing natural and artificial in-channel large wood in numerical hydraulic and hydrological models. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Water*, 6. doi:10.1002/wat2.1389
- Alemán-Sancheschúlz G, Solano E, Terrazas T, & López-Portillo J (2020) Functional anatomy and xylem cavitation resistance of three species of monocotyledons grown on flooded substrates. *Physiologia Plantarum*. doi:10.1111/ppl.13078
- Almeida Souza A H, Batalha M A, Casagrande J C, Rivaben R C, Assunção V A Pott A & Alves Damasceno-Junior G (2019) Fire can weaken or trigger functional responses of trees to flooding in wetland forest patches. *Journal of Vegetation Science*, 30, 521–532. doi:10.1111/jvs.12719
- Alvares C A, Stape J L, Sentelhas P C, & de Moraes Gonçalves J L (2012) Modeling monthly mean air temperature for Brazil. *Theoretical and Applied Climatology*, 113, 407–427. Doi:10.1007/s00704-012-0796-6
- Alves E S, & Angyalossy-Alfonso V (2000) Ecological Trends in The Wood Anatomy of Some Brazilian Species. 1. Growth Rings and Vessels. *IWA Journal*, 21, 3–30. doi:10.1163/22941932-90000233
- Bellard C, Leclerc C, Leroy B, Bakkenes M, Veloz S, Thuiller, W & Courchamp F (2014) Vulnerability of biodiversity hotspots to global change. *Global Ecology and Biogeography*, 23, 1376–1386. doi:10.1111/geb.12228
- Bongers F J, Olmo M, Lopez-Iglesias B, Anten N P R, & Villar R (2017) Drought responses, phenotypic plasticity and survival of Mediterranean species in two different microclimatic sites. *Plant Biology*, 19, 386–395. doi:10.1111/plb.12544
- Brodersen C R, Knipfer T, & McElrone A J (2017) In vivo visualization of the final stages of xylem vessel refilling in grapevine (*Vitis vinifera*) stems. *New Phytologist*, 217, 117–126. doi:10.1111/nph.14811
- Brotherton S J, Joyce C B, Berg M J, & Awcock G J (2019) Resilience to extreme flooding shown by both hydric and mesic wetland plant species. *Ecohydrology*, 12. doi:10.1002/eco.2158
- Burger L, & Richter H G (1991) *Aanatomía da madeira* Sao Paulo: nobel, 154p.
- Burgess-Gamble L, Ngai R, Wilkinson M, Nisbet T, Pontee N, Harvey R, Kipling K, Addy S, Rose S, Maslen S, Jay H, Nicholson A, Page T, Jonczyk J, & Quinn P (2018) *Trabalhando com processos naturais - Diretório de evidências*. Agência Ambiental.
- Carlquist S (1977) Ecological factors in wood evolution, a floristic approach. *American Journal of Botany*. 6: 887--896.
- Carvalho F A, Nascimento M T, Braga J M A (2006) Composição e riqueza florística do componente arbóreo da Floresta Atlântica submontana na região de Imbaú, Município de Silva Jardim, RJ. *Acta Botânica Brasílica*. n.20, v.3, p.727-740.
- Christman M A, & Sperry J S (2010) Single-vessel flow measurements indicate scalariform perforation plates confer higher flow resistance than previously estimated. *Plant, Cell & Environment*, 33, 431–443. doi:10.1111/j.1365-3040.2009.02094.x
- Christman M A, Sperry J S, & Smith D D (2011) Rare pits, large vessels and extreme vulnerability to cavitation in a ring-porous tree species. *New Phytologist*, 193, 713–720. doi:10.1111/j.1469-8137.2011.03984.x
- Colmer T D & Voesenek L A C J (2009) Flooding tolerance: suites of plant traits in variable environments. *Functional Plant Biology*, 36, 665. doi:10.1071/fp09144
- Esser L F, Neves D M, & Jarenkow J A (2019) Habitat-specific impacts of climate change in the Mata Atlântica biodiversity hotspot. *Diversity and Distributions*. Doi:10.1111/ddi.12984
- Ferner E, Rennenberg H, Kreuzwieser J (2012) Effect of flooding on C metabolism of flood-

- tolerant (*Quercus robur*) and non-tolerant (*Fagus sylvatica*) tree species, *Tree Physiology*, Volume 32, Issue 135-145, <https://doi.org/10.1093/treephys/tps009>
- Fischer F M, Wright A J, Eisenhauer N, Ebeling A, Roscher C, Wagg C, Pillar V D (2016) Plant species richness and functional traits affect community stability after a flood event. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 371(1694), 20150276. doi:10.1098/rstb.2015.0276
- Flores T B Meliaceae in Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB9995>>. Acesso em: 29 set. 2020
- Fraaije R G A, Ter Braak C J F, Verduyn B, Breeman L B S, Verhoeven J T A, & Soons M B (2015) Early plant recruitment stages set the template for the development of vegetation patterns along a hydrological gradient. *Functional Ecology*, 29, 971–980. doi:10.1111/1365-2435.12441
- Garavillon-Tournayre M, Gousset-Dupont A, Gautier F, Benoit P, Conchon P, Souchal R, & Fumanal B (2017) Integrated drought responses of black poplar: how important is phenotypic plasticity? *Physiologia Plantarum*, 163(1), 30–44. doi:10.1111/ppl.12646
- Garssen A G, Baattrup-Pedersen A, Voesenek L A C J, Verhoeven J T A, & Soons M B (2015) Riparian plant community responses to increased flooding: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 21, 2881–2890. doi:10.1111/gcb.12921
- Guedes-Bruni, Rejan R, Silva N, Sebastião J, Morim M P, & Mantovani W (2006) Composição florística e estrutura de trecho de Floresta Ombrófila Densa Atlântica aluvial na Reserva Biológica de Poço das Antas, Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia*, 57, 413–428. <https://doi.org/10.1590/2175-7860200657303>
- Gupta P, & Gupta S (2020) Wood anatomy of Indian oaks, with reference to systematic, ecological and evolutionary perspectives. *Nordic Journal of Botany*, 38. doi:10.1111/njb.02570
- IAWA Committee. (1989) List of microscopic feature of hardwood identification. *IAWA Bulletin* 10: 219- 332.
- Jangid P P, & Gupta S (2015) Comparative wood anatomy of Indian Drypetes and Putranjiva (Putranjivaceae): systematic implications, identification and comments on the synonymy of *D. sumatrana*. *Nordic Journal of Botany*, 33, 684–695. doi:10.1111/njb.00850
- Jangid P P, & Gupta S (2016). Systematic wood anatomy of the tribe Phyllanthae (Phyllanthaceae, Euphorbiaceae s.l.) from India: implication in reinstatement of Phyllanthus, Glochidion and allies. *Nordic Journal of Botany*, 34, 496–512. doi:10.1111/njb.01072
- Jangid P P, & Gupta S (2017) Systematic wood anatomy of Indian Antidesmatoideae (Phyllanthaceae), with remarks on the generic distinctness of Aporosa and Baccaurea. *Nordic Journal of Botany*, 35, 220–231. doi:10.1111/njb.01272
- Johansen D A (1940) Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Company, Inc.; London.
- Sonsin O J, Sonsin P, Gasson E, Barros C F, Marcati C R, Marcati A (2012) Comparison of the wood anatomy of 11 species from two cerrado habitats (cerrado s.s. and adjacent gallery forest), *Botanical Journal of the Linnean Society*, Volume 170, Issue 2, Pages 257–276, <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.2012.01282.x>
- Kraus J E, & Arduin M (1997) Manual básico de métodos em morfologia vegetal (Vol. 1). Rio de Janeiro: Edur.
- Lan Z, Chen Y, Shen R, Cai Y, Luo H, Jin B, & Chen J (2020) Effects of flooding duration on wetland plant biomass: The importance of soil nutrients and season. *Freshwater Biology*. doi:10.1111/fwb.13630
- Lawson J R, Fryirs K A, & Leishman M R (2015) Hydrological conditions explain variation in wood density in riparian plants of south-eastern Australia. *Journal of Ecology*, 103,

945–956. doi:10.1111/1365-2745.12408

- Lens F, Tixier A, Cochard H, Sperry J S, Jansen S, & Herbette S (2013) Embolism resistance as a key mechanism to understand adaptive plant strategies. *Current Opinion in Plant Biology*, 16, 287–292. doi:10.1016/j.pbi.2013.02.005
- Lima H C, Pessoa S V A, Guedes-Bruni R R, Moraes L F D, Granzotto S V, Iwamoto S (2006) Caracterização Fisionômico-Florística e Mapeamento da Vegetação da Reserva Biológica de Poço das Antas, Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguesia*; 57: 369-389.
- Liu Y, Liang Y, Gao Z, & Yao Y (2017) Online Flooding Supervision in Packed Towers: An Integrated Data-Driven Statistical Monitoring Method. *Chemical Engineering & Technology*, 41, 436–446. doi:10.1002/ceat.201600645
- Lucas W J, Groover A, Lichtenberger R, Furuta K, Yadav S-R, Helariutta, Y, Kachroo P (2013) The Plant Vascular System: Evolution, Development and Functions F. *Journal of Integrative Plant Biology*, 55, 294–388. doi:10.1111/jipb.12041
- Manvail V, & Scremin-Dias E (2020) Drought adaptation in populations of *Inga vera* subsp. *affinis* (DC.) T.D.Penn. that are exposed to extensive seasonal flooding. *Flora*, 151678. doi:10.1016/j.flora.2020.151678
- Marcati C R, Angyalossy-Alfonso V, & Benetati (2001) Anatomia comparada do lenho de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae-Caesalpinoideae) de floresta e cerrado. *Brazilian Journal of Botany*, 24, 311-320. doi.org/10.1590/S0100-84042001000300010.
- Maxwell P S, Pitt K A, Burfeind D D, Olds A D, Babcock R C, & Connolly R M (2013) Phenotypic plasticity promotes persistence following severe events: physiological and morphological responses of seagrass to flooding. *Journal of Ecology*, 102, 54–64. doi:10.1111/1365-2745.12167
- Mustroph A (2018) Flooding Stress in Plants. *eLS*, 1–8. doi:10.1002/9780470015902.a0001317.pub3
- Nahorniak M, Wheaton J, Volk C, Bailey P, Reimer M, Wall E, Jordan C (2018) How do we efficiently generate high-resolution hydraulic models at large numbers of riverine reaches? *Computers & Geosciences*, 119, 80–91. doi:10.1016/j.cageo.2018.07.001
- Naimi B, Hamm N A S, Groen T A, Skidmore A K, & Toxopeus A G (2013) Where is positional uncertainty a problem for species distribution modelling? *Ecography*, 37, 191–203. doi:10.1111/j.1600-0587.2013.00205.x
- Sasidharan R, Bailey-Serres J, Ashikari M, Atwell B J, Colmer T D, Fagerstedt K, Voesenek L A C J (2017) Community recommendations on terminology and procedures used in flooding and low oxygen stress research. *New Phytologist*, 214, 1403–1407. doi:10.1111/nph.14519
- Scogings P F, & Sankaran M (2019) Woody Plants and Large Herbivores in Savannas. *Savanna Woody Plants and Large Herbivores*, 683–712. doi:10.1002/9781119081111.ch21
- Sonsin J O, Gasson P E, Barros C F, & Marcati C R (2012) A comparison of the wood anatomy of 11 species from two cerrado habitats (cerrado s.s. and adjacent gallery forest). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 170, 257–276. doi:10.1111/j.1095-8339.2012.01282.x
- Stotz G C, Salgado-Luarte C, Escobedo V M, Valladares F, & Gianoli E (2021) Global trends in phenotypic plasticity of plants. *Ecology Letters*, 24, 2267–2281. doi:10.1111/ele.13827
- Stotz G C, Salgado-Luarte C, Escobedo V M, Valladares F, & Gianoli E (2021) Global trends in phenotypic plasticity of plants. *Ecology Letters*, 24, 2267–2281. doi:10.1111/ele.13827
- Szabó S, Peeters E T H M, Várbíró G, Borics G, & Lukács B A (2018) Phenotypic plasticity

- as a clue for the invasion success of the submerged aquatic plant *Elodea nuttallii*. *Plant Biology*. doi:10.1111/plb.12918
- Valladares F, Sanchez-Gomez D, & Zavala M A (2006) Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, 94, 1103–1116. doi:10.1111/j.1365-2745.2006.01176.x.
- Valladares F, Wright S J, Lasso E, Kitajima K, & Pearcy R W (2000) Plastic Phenotypic Response to Light of 16 Congeneric Shrubs From a Panamanian Rainforest. *Ecology*, 81, 1925–1936. doi:10.1890/0012-9658(2000)081[1925:pprtlo]2.0.co;2
- Van Kleunen, M, Lenssen J P M, Fischer M, & De Kroon H (2007) Selection on phenotypic plasticity of morphological traits in response to flooding and competition in the clonal shore plant *Ranunculus reptans*. *Journal of Evolutionary Biology*, 20, 2126–2137. doi:10.1111/j.1420-9101.2007.01431.x
- Veloso H P & Góes-Filho L (1982) Fitogeografia Brasileira. Classificação fisionômicoecológica da vegetação neotropical. *Boletim Técnico Projeto radambrasil, Série Vegetação*, 1: 1-79.
- Venturas M D, Sperry J S, & Hacke U G (2017) Plant xylem hydraulics: What we understand, current research, and future challenges. *Journal of Integrative Plant Biology*, 59, 356–389. doi:10.1111/jipb.12534
- Walter J (2020) Dryness, wetness and temporary flooding reduce floral resources of plant communities with adverse consequences for pollinator attraction. *Journal of Ecology*. doi:10.1111/1365-2745.13364
- Wohl E (2019) Wood process domains and wood loads on floodplains. *Earth Surface Processes and Landforms*. doi:10.1002/esp.4771
- Zhang Q, Peters J L, Visser E J W, de Kroon H, & Huber H (2016) Hydrologically contrasting environments induce genetic but not phenotypic differentiation in *Solanum dulcamara*. *Journal of Ecology*, 104, 1649–1661. doi:10.1111/1365-2745.12648

## 6. Discussão geral

As análises das estruturas funcionais podem ser esclarecedoras em estudos comparativos de espécies vegetais em diversos ambientes, possibilitando identificar especificamente as diferentes estratégias adaptativas e diferentes graus de tolerância de cada espécie de planta (Stevens, Stuhler e Grimshaw, 2020). Os resultados destacam variações nas características morfoanatômicas foliares e do lenho, e o quanto essas variações foram significativas na estabilização das espécies em ambiente alagado.

Os dados apresentados nos capítulos I e II permitiram concluir que as diferenças contrastantes entre as áreas alagada e não alagada induziram aclimações em atributos estruturais e ecofisiológicos nas folhas e no lenho das plantas estudadas e consequentemente desenvolvimento de estratégias destas espécies vegetais para contornar as possíveis adversidades relacionadas ao alagamento. Essas variações foram suficientes para promover a estabilização e colonização destas espécies a área alagada. Com a identificação destas variações da estrutura, denominada plasticidade fenotípica, e análises dos fatores relacionados foi possível identificar as principais estratégias aclimatativas que permitiram com que essas espécies conseguissem sobreviver e habitar no ambiente alagado corroborando estudo da literatura, com exemplo, Garavillon-Tournayre e coautores (2017) e Stotz e coautores (2021).

As plantas podem estar expostas em diferentes graus de alagamentos, sendo períodos transitórios ou inundações permanentes, como ocorre em lagos, pântanos e áreas de declive (Pyšek et al., 2012). O grau de respostas a inundação está totalmente relacionado ao grau de alagamento. Desta forma, as plantas podem desenvolver aclimações mais severas ou mais brandas, como respostas para lidar com as condições anóxicas subsequentes que ocorrem em suas partes (Pedersen et al., 2011).

Como apresentado no capítulo I, as adaptações mais comuns ao alagamento são modificações nas estruturas foliares, com o desenvolvimento de tecidos objetivando contornar a anoxia e a deficiência nutricional que estas plantas enfrentam, desta forma essas espécies acabam por desenvolverem maiores valores de LMS, suculência e densidade, além de menores áreas foliares, corroborando com Paviolo e coautores (2016). O desenvolvimento de grandes espaços intracelulares também se torna uma estratégia fundamental para o armazenamento e condução de oxigênio, pois um tecido preenchido com gás fornece um contínuo potencial para a troca gasosa entre as partes submersas da planta e a atmosfera (Paul et al., 2013).

Nakayama et al. (2017), em um estudo comparativo de respostas anatômicas e morfológicas de plantas em condições de inundação, relataram que a estrutura da lamina foliar, assim como a espessura dos parênquimas paliçádico e lacunoso tendem a se desenvolver mais como uma estratégia na redistribuição de fotoassimilados nas folhas, pois, a concentração de carboidratos e açúcares nos tecidos foliares é menor nas condições de alagamento. Assim, as plantas tendem a acumular fotoassimilados e redistribuir para as demais partes (Nishida et al., 2015). Neste estudo, *G. guidonia* e *V. Discolor*, na área alagada, mostraram maiores espessamento das células do parênquima paliçádico; quanto ao parênquima lacunoso, apenas a espécie *A. anthelmia* mostrou diferenças significativas, com maiores valores na área alagada. Já os maiores valores de epidermes e cutículas comumente encontrados em plantas de área alagadas funcionam como estratégia aclimatativa para diminuir o influxo de água nas folhas e melhorar a resistência mecânica no ambiente alagado. Os nossos resultados mostraram que na área alagada as espécies apresentaram maiores valores de cutícula e epiderme. As trocas gasosas via estômatos também é alterada nas condições de alagamento, desta maneira as plantas tendem a desenvolverem maiores densidades estomáticas como estratégia aclimatativa para promover um incremento na área disponível para trocas gasosas e, assim, disponibilizar maior quantidade de CO<sub>2</sub> para a fotossíntese (Creese et al., 2014; Iida et al., 2016). Nossos resultados corroboram com essas afirmações, mostrando que espécies *A. anthelmia* e *V. discolor* no ambiente alagado desenvolveram um maior padrão de densidade estomática.

O desenvolvimento dessas estratégias é de suma importância na estabilização das espécies vegetais nestas áreas onde o excesso de água submerge a zona da raiz e partes do caule. Em condições normais, o sistema radicular permanece em contato com a atmosfera gasosa, sendo possível a assimilação de gás carbono e oxigênio. Com a inundação a concentração desses gases diminuiu no solo, uma vez que os espaços são preenchidos pela água. Esse excesso de água pode resultar em hipóxia (baixa concentração de oxigênio) ou anoxia (falta de oxigênio) (Sairam et al., 2008; Ezequiel et al., 2015). Nestas condições, o crescimento das partes vegetativas tende a ser drasticamente inibido. Em condições de inundação, as raízes crescem apenas na região da superfície e não pode explorar totalmente o volume do solo como em condições aeradas. Com privação de oxigênio nas raízes, a respiração mitocondrial é bloqueada e a produção de energia é limitada (Sairam et al. 2008; Mustroph et al., 2010). Além disso, a hipóxia diminui o sistema hidráulico e a condutividade, afetando também as aquaporinas, diminuindo assim a absorção de água e nutrientes pelas raízes, desta maneira as plantas acabam por desenvolver estratégias que promovam uma

melhor condutividade e maior armazenamento e distribuição de nutrientes (Horchani et al. 2008; Morbeck e Gualtieri, 2017). Nossos resultados sugerem que as espécies analisadas desenvolveram estratégias no sentido de contornarem esses estresses causados por inundações, desta maneira, o conjunto dessas mudanças observadas podem ter promovido a estabilização dessas espécies ao ambiente totalmente limitante.

Enquanto a biomassa da raiz determina o custo relacionado à construção e manutenção, o comprimento determina a capacidade de adquirir água e nutrientes (De Oliveira et al., 2013; Llorente et al., 2017). A fim de evitar a falta de oxigênio em áreas inundadas, as espécies desenvolvem tecidos parenquimáticos com grandes espaços intracelulares preenchidos com gases, que permitem o transporte de oxigênio do caule para raízes sob condições de hipóxia (Lin, Khlystov e Katul, 2014). Nossos resultados apontam que as espécies desenvolveram esses maiores espessamento dos parênquimas paliçádico e lacunoso como estratégias para armazenamento e condução de gases. Oxigênio move-se longitudinalmente (da haste à raiz) e radialmente (do córtex para a rizosfera) por difusão (Shiono et al. 2008). A menor disponibilidade de oxigênio também pode afetar os atributos do lenho, causando mudança de volume nos tecidos, com diminuição ou aumento no número de células (Liao et al., 2016). A classificação ecohidrológica do lenho tem se tornado uma ferramenta indispensável no entendimento sobre as estruturas das diferentes comunidades de plantas (Poff et al. 2010; Zhang et al. 2011). Abordagens neste sentido buscam investigar o comportamento de espécies vegetais presentes em áreas potencialmente alagadas.

Neste sentido, o capítulo II deste trabalho, investigou a biogeomorfia do lenho, e como os elementos biológicos e físicos impulsionam modificações neste tecido. Desta forma, as alterações biológicas e físicas do ambiente podem impulsionar mudanças genéticas entre as populações (Lawson et al., 2015). Nas plantas, a anatomia do lenho pode fornecer uma visão para avaliar a variação adaptativa e, conseqüentemente, as mudanças evolutivas, desta maneira, a análise de madeira se torna uma ferramenta para examinar o comportamento da atividade dos componentes celulares da madeira e quais os hábitos adquiridos pelas espécies, contribuindo para a compreensão das estratégias aclimatativas frente as áreas inundadas (Alemán-Sancheschúlz et al., 2020). Os nossos resultados sugerem que as estratégias desenvolvidas variam de espécie para espécie, entendendo que o sucesso evolutivo das espécies não estão condicionados apenas o desenvolvimento de uma dada característica, mas ao conjunto dessas características.

A inundação é um fator que pode induzir essas alterações, pois a redução nas trocas gasosas, leva a condições inferiores de oxigênio, o potencial de troca de água e íons entre as

raízes das plantas e o ambiente são limitados, e assim as plantas estressadas têm duas opções: se adaptar, ou perecer (Voss et al., 2018; Hietz et al., 2016). Além disso, as inundações são um evento comum em muitos ecossistemas, uma compreensão dos mecanismos estratégicos de resistência das comunidades de plantas presentes nestas áreas fornece importantes “insights” sobre a estrutura, composição e dinamismo dessas espécies no ambiente (De Boer et al., 2016).

Um dos fatores mais limitantes para as plantas que crescem em um ambiente inundado é o risco de cavitação, ou seja, a formação de bolhas de ar na seiva do xilema, bloqueando o transporte de água. Uma vez que a cavitação já está influenciando fortemente a funcionalidade do sistema hidráulico em condições mesofílicas, essas plantas, acabam por enfrentar um dilema entre a proteção de seu sistema de transporte de água contra a cavitação e a capacidade de condução, ou seja, investir em tecidos que garantam a segurança ou a eficiência (Huang et al., 2019). Desta maneira, nossos resultados mostram que as espécies responderam de forma diferente ao mesmo estresse. Neste sentido, *A. anthelmia* e *V. discolor* investiram seus atributos para proporcionarem maior eficiência da condução hídrica, visto que *Guarea guidonia* desenvolveu seus atributos no sentido de proporcionar maior segurança na condução hídrica.

As análises dos parâmetros qualitativos e quantitativos da madeira é amplamente reconhecida como uma importante ferramenta na ecologia funcional em plantas presentes em áreas alagadas e tem sido proposta como um dos principais eixos de análises das variações ecológicas, dentro dos quais todas as principais estratégias ecológicas de plantas podem ser descritas (Argus et al., 2014; Dominguez et al., 2020). A análise da madeira é de fato uma propriedade emergente de traços da madeira, incluindo frequência e arranjo dos vasos, diâmetros das fibras, frequência dos raios, espessuras das paredes e proporção de tecido lignificado circundante (Chave et al., 2009). Nossos resultados mostram a redução da frequência de vasos e o aumento dos diâmetros tangencial e radial de *Andira anthelmia* e *Vernonanthura discolor* na área alagada. Também apresentou fibras com maiores diâmetros e maior comprimento nos indivíduos de *Andira anthelmia* na área alagada. E ainda em *Guarea guidonia*, maiores valores para frequência de raios no ambiente alagado.

O estudo dos atributos funcionais da madeira emergiu como ponto central para a ecologia das espécies de plantas presentes em ambientes estressantes, e se refere a análise do crescimento, resistência mecânica, eficiência e segurança do transporte hidráulico, armazenamento de água, sobrevivência e resistência à herbivoria (Wu et al., 2017). Então, com a análise dos atributos funcionais da madeira é possível inferir como a planta contorna

os problemas impostos pelo ambiente e como seu desempenho é influenciado pelas condições impostas (Baraloto et al., 2010). Abrangendo, desta maneira as aclimações específicas e correlacionando estas com as diretrizes do ambiente. Como por exemplo; a baixa frequência de vasos, com diâmetros maiores é uma aclimação típica de plantas em florestas tropicais alagadas, como neste ambiente existe alta disponibilidade hídrica, não há a necessidade de desenvolver vasos especializados na condução hídrica (Plourde, Boukili e Chazdon, 2014). Os maiores valores de diâmetro das pontoações intervasculares, raio-vasculares e parênquimavasculares nas espécies no ambiente alagado, indicam que as plantas investiram no transporte lateral (Mathar, Kleinebecker e Hölzel, 2014). Os maiores valores de frequência das fibras em plantas alagadas, indicam que houve um investimento na arquitetura da planta, consequentemente, um ajuste na performance mecânica da espécie (Cosme et al., 2017). Todos esses resultados foram observados em nosso estudo nas plantas presentes na área alagada, mostrando que essas espécies se ajustaram, variando seus atributos funcionais frente ao estresse imposto pelo ambiente corroborando com Mustroph, Steffens e Sasidharan (2018).

A variação combinada dessas características corresponde a ampla gama de estratégias funcionais da madeira entre as plantas. Estas diferentes estratégias aclimatativas da madeira podem conferir vantagens a plantas presentes em áreas alagadas (Saintilan e Rogers, 2014). Desta forma, relações gerais entre a funcionalidade estrutural da madeira e as diferentes características ecológicas do ambiente são correlacionadas com as diferentes estratégias aclimatativas presentes nas plantas, e podem fornecer algumas informações sobre a importância da variação funcional da madeira e a influência destas na estabilização de plantas presentes em áreas alagadas (Oliveira et al., 2021).

## **7. Considerações finais**

A água é vital para o desempenho e a sobrevivência das plantas. Contudo, o excesso acarreta processos de inundação e consequentemente mudanças nas características edáficas do ambiente. A inundação do solo cria condições limitantes para as espécies vegetais, causando danos fotoinibitórios, problemas na assimilação de oxigênio, menor absorção de nutrientes e problemas na condução vascular. Uma tolerância adequada ao alagamento e a capacidade de se aclimatar às mudanças nas condições anóxicas são características importantes para a sobrevivência de plantas presentes em áreas alagadas. A sobrevivência e desempenho dessas plantas depende fortemente de sua capacidade em ajustar seus processos

metabólicos para as condições ambientais contínuas e altamente estressantes. De uma perspectiva ampla, existem duas estratégias principais para lidar com as mudanças: as espécies podem se adaptar através da mudança genética pelo processo de evolução, ou desenvolverem aclimações explorando sua gama de plasticidade fenotípica e fisiológica.

Contudo, pelo fato dessas mudanças ocorrerem em um tempo curto, as plantas acabam tendo relativamente pouco tempo para alterar sua constituição genética, e assim as plantas confiam concomitantemente em sua capacidade de mudar, se ajustando, e desenvolvendo uma série de aclimações. Processos de aclimação são mudanças estruturais e/ou fisiológicas positivas, e correspondem a respostas impostas às novas condições, geralmente ocorrem ao longo de semanas a anos e, portanto, diferem dos processos evolutivos que demoram gerações para acontecerem. Entre os fatores ambientais mais relatados atualmente frente as mudanças globais, é o alagamento de planícies baixas, no qual em poucas semanas, principalmente nos estágios iniciais, o desenvolvimento de espécies arbóreas é afetado, além do mais, o alagamento de planícies vem sendo identificado inclusive como um dos principais fatores que podem influenciar a taxa de produção de alimentos e o desenvolvimento do agronegócio, acarretando reduções bruscas na produtividade global de produção de bens de consumo.

Desta maneira, identificar as estratégias das plantas para controlar o excesso de água e resistir à inundação se torna uma importante ferramenta na tomada de decisões globais frente as mudanças no ambiente desencadeado pelo alagamento.

A partir desse estudo, foi possível compreender as principais estratégias adaptativas da folha e do lenho que capacitaram as espécies a sobreviverem em ambiente permanentemente alagado. No entanto, são necessários estudos mais amplos, em nível de comunidade, para ampliar os conhecimentos sobre as estratégias das diferentes espécies na estabilização e colonização de áreas permanentemente alagadas.

## **8. Conclusão geral**

Com base nos nossos resultados podemos concluir que:

- ✓ As espécies alteraram suas características foliares morfológicas (espessura, suculência, LSM, densidade e área foliar), e foliares anatômicas (parênquimas, epidermes e cutículas) para conseguirem se aclimatar as condições de alagamento.

- ✓ As espécies apresentaram um padrão respostas convergentes nos atributos foliares, onde todas investiram na tolerância ao déficit nutricional (*p. ex. aumento da LSM, suculência e densidade foliar; e ajustes estequiométricos na concentração de pigmentos fotossintéticos*), aeração (*p. ex parênquima lacunoso mais espesso e maior densidade estomática*) e sustentação hidrostática das folhas (*p. ex. espessamento das epidermes e cutículas*).
- ✓ A aclimação de *A. anthelmia* e *V. discolor* ao alagamento é controlado majoritariamente por processos de plasticidade fenotípica, principalmente dos atributos morfológicos e anatômicos das folhas, enquanto, em *G. guidonia* a aclimação é controlada pelo equilíbrio entre os processos de plasticidade e integração fenotípica.
- ✓ Análises dos atributos funcionais do lenho mostram respostas das espécies as diferenças ambientais contrastantes entre as áreas alagada e não alagada, desenvolvendo ajustes funcionais aclimatativos para sobrevivência as condições impostas pelo ambiente alagado.
- ✓ As espécies *A. anthelmia* e *V. discolor* na área alagada investiram majoritariamente em eficiência na condução hídrica, desenvolvendo tecidos no sentido que abastecerem suas áreas de uma forma mais rápida. Enquanto, em *G. guidonia* desenvolveu aclimação estrutural no sentido de promover maior segurança na distribuição hídrica, aumentando tecidos especializados no impedimento de embolismos.
- ✓ Este estudo fornece informações que abrem prerrogativas para análises e sugestões sobre o uso de plantas na restauração ecológica de áreas potencialmente alagadas.

## 9. Referências Bibliográficas

- Albert, C.H., Yoccoz, N.G., Edwards, T.C., Graham, C.H., Zimmermann, N.E. & Thuiller, W. 2010.** Sampling in ecology and evolution - bridging the gap between theory and practice. *Ecography*, 33, 1028–1037
- Alemán-Sancheschúlz, G., Solano, E., Terrazas, T. & López-Portillo, J. 2020.** Functional anatomy and xylem cavitation resistance of three species of monocotyledons grown on flooded substrates. *Physiologia Plantarum*. doi:10.1111/ppl.13078
- Almeida, J. P., Montúfar, R., Anthelme, f. 2013.** Patterns and origin of intraspecific functional variability in a tropical alpine species along an altitudinal gradient. *Plant Ecology & Diversity*, v. 6, n. 3-4, p. 423–433.
- Almeida-Neto, M., Campassi, F., Galetti, M., Jordano, P., & Oliveira-Filho, A. 2008.** Vertebrate dispersal syndromes along the Atlantic forest: broad-scale patterns and macroecological correlates. *Global Ecology and Biogeography*, 17(4), 503–513.

Doi:10.1111/j.1466-8238.2008.00386.x

- Argus, R. E., Colmer, T. D. & Grierson, P. F. 2014.** Early physiological flood tolerance is followed by slow post-flooding root recovery in the dryland riparian tree *Eucalyptus camaldulensis* subsp. *refulgens*. *Plant, Cell & Environment*, 38, 1189–1199. doi:10.1111/pce.12473
- Armbruster, W.S., Pelabon, C., Hansen, T.F. & Bolstad, G.H. 2009.** Macroevolutionary patterns of pollination accuracy: a comparison of three genera. *New Phytologist*, 183, 600–617.
- Aronson, J.; Durigan, G. & Brancalion, P.H.S. 2011.** Conceitos e definições correlatos à ciência e a prática da restauração ecológica. *IF Série de Registros* 44:1-38.
- Balakhnina T., Włodarczyk T., Borkowska A., Nosalewicz M., Serdyuk O., Smolygina L., Ivanova E., and Fomina I. 2010.** Effect of 4-hydroxyphenethyl alcohol on growth and adaptive potential of barley plants under optimal and soil flooding conditions, *Polish J. Environ. Studies*, 19, 565–572.
- Balakhnina, T. I. 2018.** 4-Hydroxyphenethyl Alcohol and Dihydroquercetin Increase Adaptive Potential of Barley Plants Under Soil Flooding Conditions. *Complex Biological Systems*, 301–327. Doi:10.1002/9781119510390.ch8
- Baraloto, C., Timothy, Paine, C. E., Poorter, L., Beauchene, J., Bonal, D., Domenach A. M., Chave, J. 2010.** Decoupled leaf and stem economics in rain forest trees. *Ecology Letters*, 13, 1338–1347. doi:10.1111/j.1461-0248.2010.01517.x
- Barros, M. J. F.; Silva-arias, G. A.; Fregonezi, J. N.; Turchetto-zolet, A. C.; Iganci, J. R. V.; Diniz-filho, J. A. F.; Freitas, L. B. 2015.** Environmental drivers of diversity in Subtropical Highland Grasslands. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ppees.2015.08.001>, 2015.
- Belgio, E., Duffy, C. D. P., & Ruban, A. V. 2013.** Switching light harvesting complex II into photoprotective state involves the lumen-facing apoprotein loop. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15, 12253.
- BFG – The Brazil Flora Group. Growing knowledge. 2015:** An Overview of Seed Plant Diversity in Brazil, Rio de Janeiro, 66, p. 1085-1
- Blanke, M. M., Cooke D.T. 2004.** Effects of flooding and drought on stomatal activity, transpiration, photosynthesis, water potential and water channel activity in strawberry stolons and leaves, *Plant Growth Regul.*, Vol. 42, p.153–160, doi:10.1023/B:GROW.0000017489.21970.d4.
- Blum, C. T.; Roderjan, C. V. 2007.** Espécies indicadoras em um gradiente da Floresta Ombrófila Densa na Serra da Prata, Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Biociências*, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 873 – 875.
- Boucher, F. C., Thuiller, W., Arnoldi, C., Albert, C. H., & Lavergne, S. 2013.** Unravelling the architecture of functional variability in wild populations of *Polygonum viviparum* L. *Functional Ecology*, 27, 382–391. Doi:10.1111/1365-2435.12034
- Brito, M. R. M., Lion, M. B., Oliveira, I. F., & Cardoso, M. Z. 2021.** Butterflies on the dry edge of the Atlantic Forest: water availability determines community structure at the Northern limit of Atlantic Forest. *Insect Conservation and Diversity*, 14, 476–491. Doi:10.1111/icad.12474
- Brodribb, T.J., Feild, T.S., Sack, L., 2010.** Viewing leaf structure and evolution from a

hydraulic perspective. *Funct. Plant Biol.* 37, 488–498.

- Callado, C. H.; Marcon, M. L.; Costa, C. G.; Cunha, M.; Lima, H. R. P. & Marquete, O. 2001.** Madeiras da Mata Atlântica: anatomia do lenho de espécies ocorrentes nos remanescentes florestais do estado do Rio de Janeiro – Brasil. Volume II. JBRJ, Rio de Janeiro, 94p.
- Cardoso-leite, E.; Pagani, M. I.; Monteiro, R. & Hamburger, D .S. 2005.** Ecologia da paisagem: mapeamento da vegetação da Reserva Biológica da Serra do Japi, Jundiaí, SP, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 19: 233-243.
- Cavallero L, López D, & Barberis I M. 2009.** Morphological variation of *faechmea distichantha*(Bromeliaceae) in a Chaco forest: habitat and size-related effects. *Plant Biology*, 11, 379–391. Doi:10.1111/j.1438-8677.2008.00123.x
- Chazdon R.L, Letcher S.G, Van Breugel M, Martínez-Ramos M, Bongers F, Finegan B. 2007.** Rates of change in tree communities of secondary Neotropical forests following major disturbances. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*; 362(1478):273-289. Doi:10.1098/rstb.2006.1990
- Chazdon, RL, Letcher, SG, van Breugel, M., Martinez-Ramos, M., Bongers, F., & Finegan, B. 2007.** Taxas de mudança nas comunidades de árvores de florestas neotropicais secundárias após grandes distúrbios. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 362 (1478), 273-289. Doi: 10.1098/rstb.2006.1990
- Colautti RI, Barrett SCH 2013.** Rapid adaptation to climate facilitates range expansion of an invasive plant. *Science*, 342, 364–366.
- Cosme, L. H. M., Schietti, J., Costa, F. R. C & Oliveira, R. S. 2017.** The importance of hydraulic architecture to the distribution patterns of trees in a central Amazonian forest. *New Phytologist*, 215, 113–125. doi:10.1111/nph.14508
- Creese, C., Oberbauer, S., Rundel, P. & Sack, L. 2014.** Are fern stomatal responses to different stimuli coordinated? Testing responses to light, vapor pressure deficit, and CO<sub>2</sub> for diverse species grown under contrasting irradiances. *New Phytologist*, 204, 92–104. doi:10.1111/nph.12922
- De Almeida, R. F., Amorim, A. M. A., & van den Berg, C. 2018.** Timing the origin and past connections between Andean and Atlantic Seasonally Dry Tropical Forests in South America: Insights from the biogeographical history of *Amorimia* (Malpighiaceae). *Taxon*, 67, 739–751. Doi:10.12705/674.4
- De Boer, H, J., Price, C. A., Wagner-Cremer, F., Dekker, S. C., Franks, P, J & Veneklaas, E. J. 2016.** Optimal allocation of leafepidermal area for gas exchange. *New Phytologist*, 210, 1219–1228. doi:10.1111/nph.13929
- De Oliveira., Jucoski, G., Cambraia, J., Ribeiro, C., De Oliveira, J. A., De Paula, S, O., & Oliva, M. A. 2013.** Impact of iron toxicity on oxidative metabolism in young *Eugenia uniflora* L. plants. *Acta Physiologiae Plantarum*, 35, 1645–1657. doi:10.1007/s11738-012-1207-4
- Dominguez, P, G., Donev E, Derba-Maceluch M, Bündler A, Hedenström M, Tomášková I, Niittylä. T. 2020.** Sucrose synthase determines carbon allocation in developing wood and alters carbon flow at the whole tree level in aspen. *New Phytologist*. doi:10.1111/nph.16721
- Ellenberg, H.; Mueller-Dombois, D. 1967.** A key to raunkiaer plant life-forms with revised

subdivisions. *Berichte des Geobotanischen Institutes der Eidg. Techn. Hochschule Stiftung Rübel, Zurich: ETH*, 37, 56-73.

- Esser L.F, Neves D.M, & Jarenkow J.A 2019.** Habitat-specific impacts of climate change in the Mata Atlântica biodiversity hotspot. *Diversity and Distributions*.  
Doi:10.1111/ddi.12984
- Ezequiel, J., Laviale, M., Frankenbach, S., Cartaxana, P., & Serôdio, J. 2015.** Photoacclimation state determines the photobehaviour of motile microalgae: The case of a benthic diatom. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 468, 11–20. doi:10.1016/j.jembe.2015.03.004
- Fahrig, L., Arroyo-Rodríguez, V., Bennett, J.R., Boucher-Lalonde, V., Cazetta, E., Currie, D.J., Eigenbrod, F., Ford, A.T., Harrison, S.P., Jaeger, J.A.G., Koper, N., Martin, A.E., Martin, J.-L., Metzger, J.P., Morrison, P., Rhodes, J.R., Saunders, D.A., Simberloff, D., Smith, A. C., Tischendorf, L., Vellend, M. & Watling, J.I. 2019.** Is habitat fragmentation bad for biodiversity? *Biological Conservation*, 230, 179–186
- Fajardo, A.; Piper, F. I. Intraspecific trait variation and covariation in a widespread tree species (*Nothofagus pumilio*) in southern Chile. 2011.** *New Phytologist*, 189, 259–271.
- Ferrante, L. & Fearnside, P.M. 2019.** Brazil's new president and 'ruralists' threaten Amazonia's environment, traditional peoples and the global climate. *Environmental Conservation*, 46, 261–263.
- Fletcher, R.J., Didham, R.K., Banks-Leite, C., Barlow, J., Ewers, R.M., Rosindell, J., Holt, R.D., Gonzalez, A., Pardini, R., Damschen, E.I., Melo, F.P.L., Ries, L., Prevedello, J.A., Tschardt, T., Laurance, W.F., Lovejoy, T. & Haddad, N.M. 2018.** Is habitat fragmentation good for biodiversity? *Biological Conservation*, 226, 9–15
- Garavillon-Tournayre, M., Gousset-Dupont, A., Gautier, F., Benoit, P., Conchon, P., Souchal, R., Fumanal, B. 2017.** Integrated drought responses of black poplar: how important is phenotypic plasticity? *Physiologia Plantarum*, 163, 30–44. doi:10.1111/pp1.12646
- Gorgens, E. B., Motta, A. Z., Assis, M., Nunes, M. H., Jackson, T., Coomes, D., ... Ometto, J. P. 2019.** The giant trees of the Amazon basin. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 17, 373–374. Doi:10.1002/fee.2085
- Guedes-Bruni, R. R.; Silva Neto, S. J.; Morim, M. P. & Mantovani, W. 2006.** Composição florística e estrutura de trecho de Floresta Atlântica sobre planície aluvial na Reserva Biológica de Poço das Antas, Silva Jardim, RJ. *Rodriguesia* 57: 413-428.
- Haddad, N.M., Brudvig, L.A., Clobert, J., Davies, K.F., Gonzalez, A., Holt, R.D., Lovejoy, T.E., Sexton, J.O., Austin, M.P., Collins, C.D., Cook, W.M., Damschen, E.I., Ewers, R.M., Foster, B.L., Jenkins, C. N., King, A.J., Laurance, W.F., Levey, D.J., Margules, C.R., Melbourne, B.A., Nicholls, A.O., Orrock, J.L., Song, D.-X. & Townshend, J.R. 2015.** Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Science Advances*, 1, e1500052.
- Haddad, N.M., Gonzalez, A., Brudvig, L.A., Burt, M.A., Levey, D.J. & Damschen, E.I. 2017.** Experimental evidence does not support the Habitat Amount Hypothesis. *Ecography*, 40, 48–55

- Hadley, A.S. & Betts, M.G. 2016.** Refocusing habitat fragmentation research using lessons from the last decade. *Current Landscape Ecology Reports*, 1, 55–66.
- Halbritter, A. H.; Billeter, R.; Edwards, P. J.; Alexander, J. M. 2015.** Local adaptation at range edges: comparing elevation and latitudinal gradients. *Journal of Evolutionary Biology*, 28, 1849-1860.
- He G, Yang P, Cao Y, et al. Cytokinin Type-B. 2021.** Response Regulators Promote Bulbil Initiation in *Lilium lancifolium*. *Int J Mol Sci*. 22: 3320. Doi:10.3390/ijms22073320
- Hermant, M.; Prinzing, A.; Vernon, P.; Convey, P.; Hennion, F. 2013.** Endemic species have highly integrated phenotypes, environmental distributions and phenotype-environment relationships. *Journal of Biogeography*, 40, 1583-1594.
- Hietz, P., Rosner, S., Hietz-Seifert, U & Wright, S. J. 2016.** Wood traits related to size and life history of trees in a Panamanian rainforest. *New Phytologist*, 213, 170–180. doi:10.1111/nph.14123
- Horchani, F., Gallusci, P., Baldet, P., Cabasson, C., Maucourt, M., Rolin, D., Raymond, P. 2008.** Prolonged root hypoxia induces ammonium accumulation and decreases the nutritional quality of tomato fruits. *Journal of Plant Physiology*, 165, 1352–1359. doi:10.1016/j.jplph.2007.10.016
- Huang, L. L, Jin, J. H., Quan, C. & Oskolski, A. A. 2019.** Mummified Magnoliaceae woods from the upper Oligocene of South China, with biogeography, paleoecology and wood trait evolution implications. *Journal of Systematics and Evolution*. doi:10.1111/jse.12480
- Iida, S., Ikeda, M., Amano, M., Sakayama, H., Kadono, Y., & Kosuge, K. 2016.** Loss of heterophylly in aquatic plants: not ABA-mediated stress but exogenous ABA treatment induces stomatal leaves in *Potamogeton perfoliatus*. *Journal of Plant Research*, 129, 853–862. doi:10.1007/s10265-016-0844-x
- Instituto Brasileiro De Geografia e Estatística - IBGE. 2012.** Manual Técnico da Vegetação Brasileira. 2 ed. Rio de Janeiro.
- Jirová, A.; Klaudivová, A. & Prach, K. 2012.** Spontaneous restoration of target vegetation in old-fields in a central european landscape: a repeated analysis after three decades. *Applied Vegetation Science* 15, 245-252.
- Lagos, A. R & Muller, B. L. A. 2007.** Hotspot Brasileiro - Mata Atlântica, Saúde & Ambiente em Revista, Duque de Caxias, 2, 35-45.
- Lande, R. 2015.** Evolução da plasticidade fenotípica em espécies colonizadoras. *Molecular Ecology*, 24, 2038–2045. Doi: 10.1111 / mec.1303
- Lawson, J. R., Fryirs, K. A. & Leishman, M. R. 2015.** Hydrological conditions explain variation in wood density in riparian plants of south-eastern Australia. *Journal of Ecology*, 103, 945–956. doi:10.1111/1365-2745.12408
- Liao, H., D'Antonio, C. M., Chen, B., Huang, Q., & Peng, S. 2016.** How much do phenotypic plasticity and local genetic variation contribute to phenotypic divergences along environmental gradients in widespread invasive plants? A meta-analysis. *Oikos*, 125, 905–917. doi:10.1111/oik.02372
- Lima, H.C.; Pessoa, S.V.A.; Guedes-Bruni, R.R.; Moraes, L.F.D.; Granzotto, S.V.; Iwamoto, S. & Di Ciero, J. 2006.** Caracterização fisionômico-florística e mapeamento da vegetação da Reserva Biológica de Poço das Antas, Silva Jardim, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 57: 369-389.

- Lin, M. Y., Khlystov, A., & Katul, G. G. 2014.** Vegetation collection efficiency of ultrafine particles: From single fiber to porous media. *Journal of Geophysical Research: Atmospheres*, 119, 222–229. Doi:10.1002/2013jd020917
- Lion, M.B., Garda, A.A., Santana, D.J., & Fonseca, C.R. 2016.** The conservation value of small fragments for Atlantic Forest reptiles. *Biotropica*, 48, 265–275. <https://doi.org/10.1111/btp.12277>.
- Llorente, B., Martínez-García, J. F., Stange, C., & Rodríguez-Concepción, M. 2017.** Illuminating colors: regulation of carotenoid biosynthesis and accumulation by light. *Current Opinion in Plant Biology*, 37, 49–55. doi:10.1016/j.pbi.2017.03.011
- López-Ráez J.A., Shirasu K. & Foo E. 2017.** Strigolactones in plant interactions with beneficial and detrimental organisms: The Yin and Yang. *Trends in Plant Science*, 22, 527–537.
- Magnago, L.F.S., Rocha, M.F., Meyer, L., Martins, S.V. & Meiraneto, J.A.A. 2015.** Microclimatic conditions at forest edges have significant impacts on vegetation structure in large Atlantic forest fragments. *Biodiversity and Conservation*, 24, 2305–2318.
- Marengo, J.A. & Bernasconi, M. 2015.** Regional differences in aridity/- drought conditions over Northeast Brazil: present state and future projections. *Climatic Change*, 129, 103–115.
- Mathar, W., Kleinebecker, T. & Hölzel, N. 2014.** Environmental variation as a key process of co-existence in flood-meadows. *Journal of Vegetation Science*, 26, 480–491. doi:10.1111/jvs.12254
- Matsuda, SPH, 2011.** Mata Atlântica: legislação ambiental aplicável a floresta ombrófila densa no estado de São Paulo. Monografia em Gerenciamento Ambiental da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiróz - ESALQ / USP Piracicaba. 59p
- Messier, J., mcgill, B.J. & Lechowicz, M.J. 2010.** How do traits vary across ecological scales? A case for trait-based ecology. *Ecology Letters*,
- Moraes, L.F.D.; Assumpção, J.M.; Luchiari, C. & Pereira, T.S. 2006.** Plantio de espécies arbóreas nativas para a restauração ecológica na Reserva Biológica de Poço das Antas, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 57: 477-489.
- Morbeck de Oliveira, A. K., & Gualtieri, S. C. J. 2017.** Gas exchange in young plants of the species *Tabebuia aurea* exposed to conditions of induced water stress . *Bioscience Journal*, 33. doi.org/10.14393/BJ-v33n2-32820
- Mostofa, M. G., Li, W., Nguyen, K. H., Fujita, M., & Tran, L.-S. P. 2018.** Strigolactones in plant adaptation to abiotic stresses: An emerging avenue of plant research. *Plant, Cell & Environment*. Doi:10.1111/pce.13364
- Murphy, C.M.R., Jordan, G.J., Brodribb, T.J., 2016.** Cell expansion not cell differentiation predominantly coordinates veins and stomata within and among herbs and woody angiosperms grown under sun and shade. *Ann. Bot.* 118, 1127–1138.
- Murray-Smith C, Brummitt N A, Oliveira-filho A T, Bachman S, Moat J, Lughadha M N, & Lucas E J . 2009.** Plant Diversity Hotspots in the Atlantic Coastal Forests of Brazil. *Conservation Biology*, 23, 151–163. Doi:10.1111/j.1523-1739.2008.01075.x
- Mustroph A, Lee SC, Oosumi T, Zanetti ME, Yang H, Ma K, Yaghoubi-Masihi A, Fukao T, Bailey-Serres, J. 2010.** Cross-kingdom comparison of transcriptomic

adjustments to low-oxygen stress highlights conserved and plant-specific responses. *Plant Physiol.*, 152: 1484–500. doi: 10.1104/pp.109.151845.

- Mustroph, A., Steffens, B & Sasidharan, R .2018.** Signalling Interactions in Flooding Tolerance. *Annual Plant Reviews Online*, 417–458. doi:10.1002/9781119312994.apr0623
- Nakayama, H., Sinha, N. R. & Kimura, S. 2017.** How Do Plants and Phytohormones Accomplish Heterophylly, Leaf Phenotypic Plasticity, in Response to Environmental Cues. *Frontiers in Plant Science*, 8. doi:10.3389/fpls.2017.01717
- Nishida, K., Kodama, N., Yonemura, S., & Hanba, Y. T. 2015.** Rapid response of leaf photosynthesis in two fern species *Pteridium aquilinum* and *Thelypteris dentata* to changes in CO<sub>2</sub> measured by tunable diode laser absorption spectroscopy. *Journal of Plant Research*, 128, 777–789. doi:10.1007/s10265-015-0736-5
- Oliveira, G.M.A. 2012.** Comunidades de plântulas em campos antropizados e em plantios para restauração ecológica: estrutura, composição e fatores ambientais. Dissertação de Mestrado em Botânica, Escola
- Oliveira, R, S., Eller, C, B., Barros, F., De, V., Hirota, M., Brum, M & Bittencourt, P. 2021.** Linking plant hydraulics and the fast–slow continuum to understand resilience to drought in tropical ecosystems. *New Phytologist*, 230, 904–923. doi:10.1111/nph.17266
- Paul, L. D., Ray, H. F., Peter, J. F. 2013.** Faster stomata: scaling of stomatal size, rate of response, and stomatal conductance, *Journal of Experimental Botany*, 64, 495–505 <https://doi.org/10.1093/jxb/ers347>
- Paviolo, A., De Angelo, C., Ferraz, K. M. P. M. B., Morato, R. G., Martinez Pardo, J., Srbek-Araujo, A. C., Azevedo, F. 2016.** A biodiversity hotspot losing its top predator: The challenge of jaguar conservation in the Atlantic Forest of South America. *Scientific Reports*, 6. doi:10.1038/srep37147
- Pedersen, O., Pulido, C., Rich, S.M., Colmer, T.D. 2011.** In situ O<sub>2</sub> dynamics in submerged *Isoetes australis*: varied leaf gas permeability influences underwater photosynthesis and internal O<sub>2</sub>. *Journal of Experimental Botany* 62: 4691 – 4700.
- Pessoa, S.V.A. & Oliveira, R.R. 2006.** Análise estrutural da vegetação arbórea em três fragmentos florestais na Reserva Biológica de Poço das Antas, Rio de Janeiro, Brasil. *Rodriguésia* 57: 391-411.
- Peterson ML, Kay KM .2014.** Mating system plasticity promotes persistence and adaptation of colonizing populations of hermaphroditic angiosperms. *The American Naturalist*, in press.
- Pfennig DW, Wund MA, Snell-Rood EC, Cruikshank T, Schlichting CD, Moczek AP. 2010.** Phenotypic plasticity’s impacts on diversification and speciation. *Trends in Ecology & Evolution*, 25, 459–467.
- Plourde, B, T., Boukili, V, K. & Chazdon, R, L. 2014.** Radial changes in wood specific gravity of tropical trees: inter- and intraspecific variation during secondary succession. *Functional Ecology*, 29, 111–120. doi:10.1111/1365-2435.12305
- Poff, N. L. & Zimmerman, J. K. H. 2010.** Ecological responses to altered flow regimes: a literature review to inform the science and management of environmental flows. *Freshwater Biology*, 55, 194–205. doi:10.1111/j.1365-2427.2009.02272.x
- Pyšek, P., Jarošík, V., Hulme, P. E., Pergl, J., Hejda, M., Schaffner, U., & Vilà, M. 2012.**

A global assessment of invasive plant impacts on resident species, communities and ecosystems: the interaction of impact measures, invading species' traits and environment. *Global Change Biology*, 18, 1725–1737. doi:10.1111/j.1365-2486.2011.02636.x

- Ribeiro, M.C.; Metzger, J.P.; Martensen, A.C.; Ponzoni, F.J. & Hirota, M.M. 2009.** The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation* 142, 1141–1153.
- Saintilan, N & Rogers, K. 2014.** Woody plant encroachment of grasslands: a comparison of terrestrial and wetland settings. *New Phytologist*, 205, 1062–1070. doi:10.1111/nph.13147
- Sairam, R. K., Kumutha, D., Ezhilmathi, K., Deshmukh, P. S. & Srivastava, G. C. 2008.** Physiology and biochemistry of waterlogging tolerance in plants. *Biologia Plantarum*, 52, 401–412. doi:10.1007/s10535-008-0084-6
- Salgado-Negret, B., Canessa, R., Valladares, F., Armesto, JJ, & Pérez, F. 2015.** A variação das características funcionais explica a distribuição de *Aextoxicon punctatum* (Aextoxicaceae) em gradientes de umidade pronunciados dentro de fragmentos florestais dependentes de neblina. *Frontiers in Plant Science*, 6. Doi: 10.3389 / fpls.2015.00511
- Salgado-negret, B.; Canessa, R.; Valladares, F.; Armesto, J. J.; Pérez, F. 2015.** Functional traits variation explains the distribution of *Aextoxiconpunctatum* (Aextoxicaceae) in pronounced moisture gradients within fog-dependent forest fragments. *Frontiers in Plant Science*, 6.
- Santos, J.P.D., Freitas, A.V.L., Brown, K.S., Jr., Carreira, J.Y.O., Gueratto, P.E., Rosa, A.H.B., Lourenço, G.M., Accacio, G.M., Uehara-Prado, M., Iserhard, C.A., Richter, A., Gawlinski, K., Romanowski, H.P., Mega, N.O., Teixeira, M.O., Moser, A., Ribeiro, D.B., Araujo, P.F., Filgueiras, B.K.C., Melo, D.H.A., Leal, I.R., Beir~ao, M.d.V., Ribeiro, S.P., Cambuí, E.C.B., Vasconcelos, R.N., Cardoso, M.Z., Paluch, M., Greve, R.R., Voltolini, J.C., Galetti, M., Regolin, A.L., Sobral-Souza, T. & Ribeiro, M.C. 2018.** Atlantic butterflies: a data set of fruit-feeding butterfly communities from the Atlantic forests. *Ecology*, 99, 2875–2875.
- Scarano, F.R. & Ceotto, P. 2015.** Brazilian Atlantic forest: impact, vulnerability, and adaptation to climate change. *Biodiversity and Conservation* 24: 2319-2331.
- Scowcroft, P.G. & Yeh, J.T. 2013.** Passive restoration augments active restoration in deforested landscapes: The role of root suckering adjacent to planted stands of *Acacia koa*. *Forest Ecology and Management* 305: 138-145.
- Shenkin A, Chandler C, Boyd D . 2019.** The world's tallest tropical tree in three dimensions. *Front Forests Glob Changes* 2; doi.org/10.3389/ffgc.2019.00032.
- Shiono, K., Takahashi, H., Colmer, T. D. & Nakazono, M. 2008.** Role of ethylene in acclimations to promote oxygen transport in roots of plants in waterlogged soils. *Plant Science*, 175, 52–58. doi:10.1016/j.plantsci.2008.03.002
- Silva, J.M.C., Pinto, L.P., Hirota, M., Bedê, L. & Tabarelli, M. 2016.** Conservaç~ao da Mata Atlântica Brasileira - um balanço dos últimos dez anos. *Metamorfoses florestais: Culturas, ecologias e as transformações históricas da Mata Atlântica.* (ed. By D.C. Cabral and A.G. Bustamante), 435–458. Prismas, Curitiba, Brazil.

- Simon, M.F., Grether, R., Queiroz, L.P., Skema, C., Pennington, R.T. & Hughes, C. 2009.** Recent assembly of the Cerrado, a neotropical plant diversity hotspot, by in situ evolution of adaptations to fire. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106: 20359–20364. <https://doi.org/10.1073/pnas.0903410106>
- Souza, A. F. & Martins, f. R. 2004.** Spatial distribution of an undergrowth palm in fragments of the Brazilian Atlantic Forest. *Plant Ecology* 164: 141-155.
- Stevens, R. D., Stuhler, J. D., & Grimshaw, J. R. 2020.** Chiropteran metacommunity structure in the Atlantic Forest of South America. *Journal of Biogeography*. doi:10.1111/jbi.13921
- Stotz, G. C., Salgado-Luarte, C., Escobedo, V. M., Valladares, F., & Gianoli, E. .2021.** Global trends in phenotypic plasticity of plants. *Ecology Letters*, 24, 2267–2281. doi:10.1111/ele.13827
- Suzuki, N., Rivero, R. M., Shulaev, V., Blumwald, E., & Mittler, R. 2014.** Abiotic and biotic stress combinations. *New Phytologist*, 203, 32–43. Doi:10.1111/nph.12797
- Tabarelli, M., Vicente, A. & Barbosa, D.C.A. 2003.** Variation of seed dispersal spectrum of woody plants across a rainfall gradient in north-eastern Brazil. *Journal of Arid Environments*, 53, 197–210
- Thilbert-Plante X, Hendry AP . 2011.** The consequences of phenotypic plasticity for ecological speciation. *Journal of Evolutionary Biology*, 24, 326–342.
- Valladares, F.; Sanchez-Gomez, D.; Zavala, M. A. 2006.** Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, 94, 1103-1116.
- Valladares, F.; wright, S.J.; Lasso, E.; Kitajima, k.; Pearcy, R.W. 2000.** Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a panamanian rainforest. *Ecology*, Ithaca, 81, 1925-1936.
- Van Buskirk J, Steiner UK .2009.** The fitness costs of developmental canalization and plasticity. *Journal of Evolutionary Biology*, 22, 852–860.
- Vandepitte K, De Meyer T, Helsen K . 2014.** Rapid genetic adaptation precedes the spread of an exotic plant species. *Molecular Ecology*, 23, 2157–2164.
- Vasconcelos, R.N. 2013.** Perda de Mata Atlântica, estrutura de paisagens e diversidade de borboletas: abordagens "in silico e in situ". Phd thesis, Universidade Federal da Bahia.
- Vasconcelos, R.N., Cambui, E.C.B., Mariano-Neto, E., da Rocha, P.L. B. & Cardoso, M.Z. 2019.** The role of Eucalyptus planted forests for fruit-feeding butterflies' conservation in fragmented areas of the Brazilian Atlantic forest. *Forest Ecology and Management*, 432, 115–120.
- Vieira, M.V., Olifiers, N., Delciellos, A.C., Antunes, V.Z., Bernardo, L.R., Grelle, C.E.V. & Cerqueira, R. 2009.** Land use vs. Fragment size and isolation as determinants of small mammal composition and richness in Atlantic Forest remnants. *Biological Conservation*, 142, 1191–1200.
- Violle C, Bonis A, Plantegenest M, Cudennec C, Damgaard C, Marion B, Le Cœur D, Bouzille J-B. 2010.** Plant functional traits capture species richness variations along a flooding gradient. *Oikos* 120: 389–398.
- Violle, C.; Jiang, L. 2009.** Towards a trait-based quantification of species niche. *Journal of Plant Ecology*, v. 2, p. 87-93.

- 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, 882-892.
- Voss, L. J., McAdam, S. A. M., Knoblauch, M., Rathje, J. M., Brodribb, T., Hedrich R & Roelfsema, M. R. G. 2018.** Guard cells in fern stomata are connected by plasmodesmata, but control cytosolic Ca<sup>2+</sup> levels autonomously. *New Phytologist*, 219, 206–215. doi:10.1111/nph.15153
- Weijschedé, J.; Martínková, J.; De Kroon, H.; Huber, H. 2006.** Shade avoidance in *Trifolium repens*: Costs and benefits of plasticity in petiole length and leaf size. *New Phytologist*, 172, 4, 655–666.
- Weintraub, SR, Taylor, PG, Porder, S., Cleveland, CC, Asner, GP, & Townsend, AR 2015.** Controles topográficos da disponibilidade de nitrogênio no solo em uma floresta tropical de várzea. *Ecology*, 96, 1561–1574. Doi: 10.1890 / 14-0834.1
- Weldegergis B T, Zhu F, Poelman E H, & Dicke M. 2018.** Correction to: drought stress affects plant metabolites and herbivore preference but not host location by its parasitoids. *Oecologia*, 187, 873–874. doi:10.1007/s00442-018-4149-8
- Wright AJ, Ebeling A, De Kroon H, Roscher C, Weigelt A, Buchmann N, Buchmann T, Fischer C, Hacker N, Hildebrandt A. 2015.** Flooding disturbances increase resource availability and productivity but reduce stability in diverse plant communities. *Nature Communications* 6: 1–6.
- Wright, A. J., de Kroon, H., Visser, E. J. W., Buchmann, T., Ebeling, A., Eisenhauer, N., Mommer, L. 2016.** Plants are less negatively affected by flooding when growing in species-rich plant communities. *New Phytologist*, 213, 645–656. Doi:10.1111/nph.14185
- Wu, C., Zeng, A., Chen, P., Hummer, W., Mokuu, J., Shannon, J. G & Nguyen, H, T. 2017.** Evaluation and development of flood-tolerant soybean cultivars. *Plant Breeding*, 136, 913–923. doi:10.1111/pbr.12542
- WWF .2017.** State of the Atlantic Forest, three countries, 148 million people, one of the richest forests on earth.
- Yen, J.D.L., Fleishman, E., Fogarty, F. & Dobkin, D.S. 2019.** Relating beta diversity of birds and butterflies in the Great Basin to spatial resolution, environmental variables and trait-based groups. *Global Ecology and Biogeography*, 28, 328–340.
- Zhang, Y., Arthington, A. H., Bunn, S. E., Mackay, S., Xia, J. & Kennard, M. 2011.** Classification of Flow Regimes for Environmental Flow Assessment in Regulated Rivers: The Huai River Basin, China. *River Research and Applications*, 28, 989–1005. doi:10.1002/rra.1483

## 10. Anexo 1 – email de submissão do artigo

TSAF-D-21-00422 - Submission Notification to co-author - [EMID:df131e12605bcf0f]



Para: VOLTE

Re: "The functional variability of the morphoanatomical and physiological traits of native species leaves in a flooded tropical forest"

Full author list: Neilor Lacorte Borges; Saulo Pireda; Dhiego da Silva Oliveira; Gabriel do Amaral Ferreira; Marcos José Gomes Pessoa; Gabriel Silva de Oliveira; Maura Da Cunha

Dear Mr Borges,

We have received the submission entitled: "The functional variability of the morphoanatomical and physiological traits of native species leaves in a flooded tropical forest" for possible publication in Trees, and you are listed as one of the co-authors.

The manuscript has been submitted to the journal by Dr. Dr. Maura Da Cunha who will be able to track the status of the paper through his/her login.

If you have any objections, please contact the editorial office as soon as possible. If we do not hear back from you, we will assume you agree with your co-authorship.

Thank you very much.

With kind regards,

Springer Journals Editorial Office  
Trees

This letter contains confidential information, is for your own use, and should not be forwarded to third parties.

Recipients of this email are registered users within the Editorial Manager database for this journal. We will keep your information on file to use in the process of submitting, evaluating and publishing a manuscript. For more information on how we use your personal details please see our [privacy policy](https://www.springernature.com/production-privacy-policy) at <https://www.springernature.com/production-privacy-policy>. If you no longer wish to receive messages from this journal or you have questions regarding database management, please contact the Publication Office at the link below.

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/tsaf/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.

