

LEONARDO HAMACHI

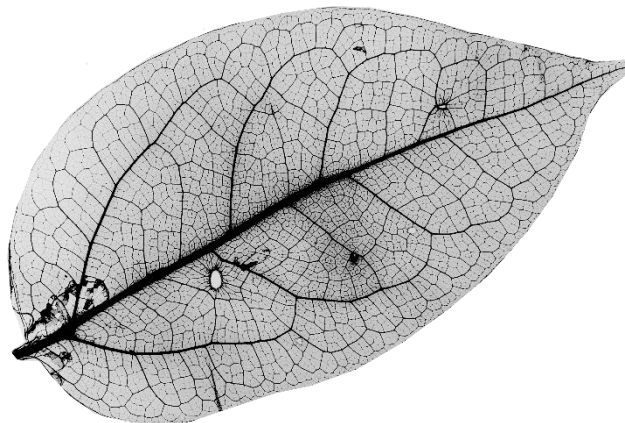
Aspectos funcionais da nervação foliar de espécies arbóreas da Mata Atlântica, SP

Tese apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria de Infraestrutura e Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de DOUTOR em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

SÃO PAULO

2020

LEONARDO HAMACHI



Aspectos funcionais da nervação foliar de espécies arbóreas da Mata Atlântica, SP

Tese apresentada ao Instituto de Botânica da Secretaria de Infraestrutura e Meio Ambiente, como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de DOUTOR em BIODIVERSIDADE VEGETAL E MEIO AMBIENTE, na Área de Concentração de Plantas Vasculares em Análises Ambientais.

ORIENTADOR: DR. MARCOS PEREIRA MARINHO AIDAR

COORIENTADORA: DRA. ADRIANA HISSAE HAYASHI

Ficha Catalográfica elaborada pelo **NÚCLEO DE BIBLIOTECAS MAPOTECAS**
do Instituto de Pesquisas Ambientais/SIMA.

Hamachi, Leonardo

H198a Aspectos funcionais da nervação foliar de espécies arbóreas da Mata Atlântica, SP / Leonardo Hamachi - - São Paulo, 2020.
82p.; il.

Tese (Doutorado) -- Instituto de Botânica da Secretaria de Infraestrutura e Meio Ambiente, 2020.
Bibliografia.

1. Arquitetura foliar. 2. Floresta tropical pluvial. 3. Características funcionais. I. Título.

CDU: 581.526.422.2

À minha esposa Emmanuelle e à minha filha Lisbela dedico

“Como professor não é possível ajudar o educando a superar a sua ignorância se não supero permanentemente a minha.”

(Paulo Freire)

Agradecimentos

Dr. Marcos Pereira Marinho Aidar por me aceitar como seu orientando e garantir os recursos financeiros necessários para a realização deste trabalho.

À Dra. Adriana Hissae Hayashi por aceitar coorientar o meu trabalho, me deixar à vontade para trabalhar nos laboratórios do Núcleo de Pesquisa em Anatomia (NPA/Instituto de Botânica) e pela prestatividade e disposição em pensar em alternativas para viabilizar o meu projeto e pelas ajudas com as revisões dos meus relatórios, dicas a respeito de pranchas de imagens, correção da parte de anatomia vegetal.

Ao Dr. Benjamin Blonder da Universidade do Arizona por colaborar com o meu trabalho, inclusive me ajudando com os códigos do MATLAB que ele escreveu para medir as características funcionais das nervuras foliares.

À Dra. Imma Oliveras da Universidade de Oxford por me convidar para um estágio em seu laboratório, convite do qual não consegui usufruir.

Ao Dr. Brian Enquist, Dra. Vigdis Vandvik, Dr. Sean Michaletz por me mostrarem e ensinarem como trabalhar eficientemente com características funcionais de plantas.

Ao Mauro Alexandre Marabesi, Fabio Fernandes Carvalho, Heloísa Bortolin Bruno, Vítor Hugo Melo de Almeida, Nidia Mara Marchiori, Josiane Valéria Soares Bison, Cleide Nascimento Campos, Lucas de Siqueira Cardinelli e à Francine Faia Fernandes do Núcleo de Pesquisa em Ecologia pelas discussões frutíferas a respeito da teoria que embasa os nossos trabalhos por terem se empenhado em ajudar na organização dos trabalhos em campo e pelo compromisso com o trabalho bem executado, apesar de todas as dificuldades que encontramos, pela paciência na hora dos desabafos a respeito da vida de pós-graduando e Biólogo no Brasil, pela gentileza, pelos momentos descontraídos e empáticos, valiosíssimos na academia.

À Deroila Vieira Marinho pelo auxílio inestimável à diafanização das amostras que ainda se encontravam por fazer enquanto eu aguardava a resposta do pedido de renovação da minha bolsa.

Renato Belinello, Motorista da UNICAMP que praticamente coordenou muitos campos, cuidou do pós-graduandos do grupo e nos fez companhia no alojamento do PESM Núcleo Santa Virgínia.

Ao Wagner, técnico de campo que fez um trabalho que, nós, estudantes vindos da cidade jamais seríamos capazes de realizar sozinhos.

Nilton de Jesus Ribeiro (NPA/IBt) pela disposição em me ajudar no laboratório de Anatomia, pelas conversas descontraídas e pelo café diário que nos dava energia para concluir os trabalhos da tarde.

Aos representantes discentes Mariana de Paula Drewinski, Mayara Caroline Barbosa dos Santos Rocha, Higor Antônio Domingues, por me substituírem várias vezes nas reuniões da CCPG e compartilharem comigo a experiência da representação em 2019, uma atividade importantíssima e pouco valorizada.

Aos colegas de outros núcleos onde não trabalhei sobretudo a aqueles que eu encontrei na ALESP, na tentativa de defender o IBt de uma concessão à iniciativa privada sem parcimônia, no Circuito Científico e na feira de Ciências da Marcha Pela Ciência. Quando tudo parecia estar perdido, esses eventos me fizeram voltar a acreditar na pesquisa.

Dra. Mutue Toyota Fujii, Dra. Denise de Campos Bicudo, Dra. Inês Cordeiro e Dra. Andréa Tucci por oferecerem ajuda e palavras claras, sinceras e motivadoras, que me estimularam a concluir este Doutorado.

Ao Dr. Eduardo Pereira Cabral Gomes (Núcleo de Pesquisa em Ecologia/IBt) por sanar algumas dúvidas que eu tive sobre estatística.

À Dra. Rosangela Simão Bianchini, Dra. Maria Candida Henrique Mamede e MS Fernanda Satori Petrongari (Núcleo de Pesquisa Curadoria do Herbário SP/IBt) pelas facilidades oferecidas para obtenção de imagens digitais de alguns dos materiais diafanizados.

À ANPG por ser um órgão ao qual o pós-graduando pode ser ouvido e compreendido por pessoas que passam pelas mesmas dificuldades.

À FAPESP por me conceder 36 meses de auxílio financeiro para a realização desta tese (processo 2016/03880-0).

SUMÁRIO

Capítulo 1 – Introdução ao cenário ambiental e abordagem metodológica para o estudo de nervação foliar de espécies arbóreas da Mata Atlântica	1
1.1. A Mata Atlântica no Estado de São Paulo	1
1.2. Estudo do ecossistema através de suas espécies e atributos funcionais	3
1.3. Projeto Temático ECOFOR	7
1.4. Objetivo Geral.....	9
Referências Bibliográficas	10
Capítulo 2 – A anatomia da nervação foliar em nível de comunidade.....	17
2.1. Introdução	17
2.2. Material e Métodos.....	18
2.2.1. Área de estudo	18
2.2.2. Coleta do material vegetal	20
2.2.3. Diafanização das folhas e visualização das nervuras	22
2.2.4. Obtenção das imagens.....	23
2.3. Resultados e Discussão	24
2.4. Conclusão	29
Capítulo 3 – Consequências da perturbação antrópica nas características funcionais da nervação foliar em comunidades arbóreas da Mata Atlântica	33
3.1. Introdução.....	33
3.2. Material e Métodos.....	35
3.2.1. Área de estudos.....	35
3.2.2. Coleta do material vegetal	35
3.2.3. Obtenção e análise de imagens.....	35
3.2.4. Parâmetros funcionais de nervação foliar analisados.....	38
3.2.5. Análise de dados	38
3.3. Resultados	39
3.4. Discussão	53

3.5. Conclusão	56
Referências Bibliográficas	56
Capítulo 4 – A relação entre nervação foliar e a economia das espécies arbóreas da Mata Atlântica	62
4.1. Introdução.....	62
4.2. Material e Métodos.....	65
4.2.1. Área de estudos.....	65
4.2.2. Coleta do material vegetal	65
4.2.3. Diafanização das folhas e visualização das nervuras	65
4.2.4. Obtenção e análise de imagens.....	65
4.2.5. Coleta e determinação das características funcionais.....	65
4.2.6. Obtenção das características funcionais da nervação foliar	67
4.2.7. Análise estatística	67
4.3. Resultados	67

RESUMO

Trabalhos relacionados a florestas tropicais contribuem para a compreensão sobre o papel desses ecossistemas na conservação da biodiversidade mundial e como fonte de serviços ambientais essenciais à vida humana. Nesse contexto, a Mata Atlântica (MA) merece destaque no Brasil. A floresta sofreu intensa exploração desde a primeira chegada dos europeus, consequentemente, exibe níveis distintos de perturbação antrópica. As espécies arbóreas são de notável importância para a manutenção da floresta e dos serviços ambientais, participando significativamente do ciclo da água e da produtividade primária da Terra. O padrão de organização das nervuras foliares dessas plantas merece atenção, pois é estreitamente relacionado ao metabolismo do carbono e às relações hídricas nas plantas. A nervação afeta a condutividade da água na folha e a eficiência fotossintética nas folhas, sendo utilizada para prever propriedades fisiológicas das folhas. Estudos recentes investigaram se as nervuras têm um papel central no espectro econômico das folhas (EEF), que consiste em algumas características das plantas, enquanto a razão massa/área foliar (LMA) é possivelmente a mais importante, capaz de indicar se uma espécie ou grupo funcional tem alta produtividade e baixa longevidade ou o inverso. Além disso, a nervação pode ser útil para avaliar as condições hídricas do ambiente das plantas, oferecendo uma abordagem preditiva baseada na arquitetura das folhas. Portanto, a fim de entender o papel da nervação no EEF e os efeitos da perturbação em espécies e grupos funcionais da MA, o objetivo deste trabalho é estudar características da nervação relacionadas à densidade de nervuras (DV) ao longo de um gradiente de perturbação e suas associações com as características funcionais da economia das plantas em espécies arbóreas dominantes de quatro parcelas permanentes do Projeto Temático Biota / FAPESP “ECOFOR (nº 12 / 51872-5), sendo duas áreas de florestas maduras e duas áreas de florestas secundárias. Os resultados obtidos indicam que a geometria da nervação foliar e não a densidade de nervuras representa a principal propriedade anatômica foliar capaz de distinguir as comunidades arbóreas estudadas: as comunidades florestais mais avançadas na sucessão

foram caracterizadas por reduzida distância entre nervuras, o que pode resultar em baixas taxas de trocas gasosas, enquanto florestas secundárias apresentaram duas estratégias funcionais: maior número de terminações livres, potencializando o suprimento de água para os tecidos; e maior reticulação conferindo maior equalização na distribuição de água pela lâmina foliar e resistência a danos. De modo mais geral, é sugerido que as nervuras foliares parecem ter menor influência sobre a economia da planta na floresta tropical estudada, possivelmente devido alta disponibilidade hídrica e homogeneidade ambiental apresentada entre elas.

Palavras-chave: arquitetura foliar, característica funcional, floresta tropical pluvial, metodologia, perturbação antrópica

ABSTRACT

Works concerning tropical forests have improved knowledge about their role in worldwide biodiversity conservancy and source of environmental services essential to human life. In this context, Atlantic Forest (AF) has a remarkable importance in Brazil. The forest has suffered intense exploitation since the first arrival of Europeans, consequently it exhibits distinct levels of human disturbance. Tree species are of remarkable importance for the forest environmental services maintenance, they significantly participate of the water cycle and the Earth primary productivity. The vein organization pattern (venation) worth attention because it is closed related to carbon metabolism and water relations in plants. Venation affects water conductivity and photosynthetic efficiency in leaves; thus, it has been used to predict physiological proprieties of leaf. Recent studies have investigated if veins have a central role in leaf economic spectrum (LES), which consists in some plant traits, whereas mass/area ratio (LMA) is possibly the most important, capable to indicate if a species or functional group has high productivity and low lifespan or low productivity and high lifespan. Moreover, venation may be useful to proxy environment water conditions of plants offering a predictive approach based in leaf architecture. Therefore, in order to understand the role of venation in LES and the effects of disturbance in species and functional groups from AF the aim of this study is to investigate vein traits related to vein density (VD) and their relations with plant economy traits of tree dominant species of four permanent plots of the Thematic Project Biota/FAPESP “*ECOFOR* no.12/51872-5): two areas of mature forests and two areas of secondary forests (one area suffered selective cutting and another shallow cutting, both about 60 years ago). The results obtained indicate that the geometry of the leaf venation and not the density of the ribs represents the main leaf anatomical property capable of distinguishing the tree communities studied: the most advanced forest communities in succession were characterized by a reduced distance between ribs, which can result in low rates of gas exchange, while secondary forests presented two functional strategies: greater number of free terminations, enhancing the water supply to

the tissues; and greater cross-linking, providing greater equalization in the distribution of water through the leaf blade and resistance to damage. More generally, it is suggested that the leaf veins appear to have less influence on the economy of the plant in the studied tropical forest, possibly due to high water availability and environmental homogeneity among them.

Keywords: leaf architecture, functional traits, human disturbance, method, tropical rain forest

Capítulo 1 – Introdução ao cenário ambiental e abordagem metodológica para o estudo de nervação foliar de espécies arbóreas da Mata Atlântica

1.1. A Mata Atlântica no Estado de São Paulo

As florestas tropicais são extremamente importantes para a manutenção das relações ecológicas e funcionais do planeta, uma vez que contribuem com um terço da produtividade e evapotranspiração, além de hospedar mais da metade da biodiversidade terrestre (Malhi et al. 2014). Contudo, nas últimas décadas essas florestas têm sofrido intensas alterações promovidas pelas atividades antrópicas. Segundo Joly et al. (2014) a perda de habitat e o isolamento, associados à conversão de terras para atividades humanas e a superexploração dos recursos, constituem as mais sérias ameaças à diversidade biológica do planeta. Estudos recentes indicam que uma consequência inevitável das perturbações ambientais, juntamente com as alterações na ciclagem de nutrientes e da distribuição das espécies é o surgimento de “novos ecossistemas”, que diferem em composição e/ou funcionamento dos ecossistemas originais, levando a mudanças significativas e perda da capacidade de prover os serviços ecossistêmicos necessários para a manutenção das civilizações humanas (Steffen et al. 2007).

Anualmente, cerca de um terço das florestas tropicais sofrem desmatamento e se encontram em fase de sucessão secundária (Aide et al. 2013). As florestas secundárias representam um tipo de vegetação frequente e dominante em paisagens modificadas pelo homem (Chazdon et al. 2009a; Gardner et al. 2009). No Brasil, o desmatamento atingiu média de 2,6 milhões de hectares por ano no período de 2000 a 2010, principalmente devido ao aumento de áreas disponíveis para agricultura, pastagem e urbanização (FAO 2011). A Mata Atlântica cobria aproximadamente 15% do território brasileiro (cerca de 1.296.446 km²) e abrangia 17 estados: Alagoas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Goiás, Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Paraná, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande

do Sul, Santa Catarina, São Paulo e Sergipe (MMA, 2010), contudo sofre fortemente com os desmatamento e perda da biodiversidade, sendo incluída entre os 25 *hotspots* mundiais, com prioridade de conservação (Myers et al. 2000). Segundo a Fundação SOS Mata Atlântica, hoje restam apenas 12,3% da cobertura original (SOS MA, 2019). Desde 1985 cerca de 1,9 milhões de ha foram desmatados, entretanto a taxa de desmatamento tem regredido, com a redução de cerca de 9,3% entre o último período avaliado (2017- 2018).

No Estado de São Paulo, a Mata Atlântica ocupava, originalmente, aproximadamente 80% do território (Joly et al. 1999), entretanto, restam apenas 16,3% dessa cobertura florestal atualmente (SOS Mata Atlântica, 2019) e menos de 5% delas representam efetivamente florestas nativas preservadas (Joly et al. 2014), sendo a maioria dos fragmentos menores que 50 ha (Ribeiro et al. 2009). É importante indicar, que a taxa de desmatamento no estado tem diminuído sistematicamente nas últimas décadas, sendo especialmente menor na última década cujo valor atingiu cerca de 2000 ha (menos de 0,01% da cobertura original).

A Mata Atlântica no Vale do Paraíba em São Paulo, após séculos de degradação, mostra sinais de recuperação, sendo que a cobertura vegetal mais que dobrou nos últimos 50 anos, sendo equivalente a 30% do território paulista do Vale do Paraíba. A reconstituição gradual e espontânea de parte da floresta após longos períodos de redução da vegetação nativa parecem ser resultado de uma convergência de fatores sociais, econômicos e ambientais, caracterizada como “transição florestal” (Farinaci et al. 2013; Silva et al. 2017). Segundo Farinaci et al. (2013), o termo transição florestal se refere a uma alteração das características do uso da terra de um período quando a cobertura florestal estava em uma fase de redução contínua para uma fase de expansão. De acordo com os autores, para compreender as razões dessa expansão é essencial entender o cenário econômico, uma vez que a urbanização e industrialização promovem o êxodo rural e, as florestas abandonadas, passam a apresentar sucessão secundária.

Os impactos humanos na Terra são tão intensos que diversos pesquisadores, embasados em registros geológicos e ambientais, sugerem que estamos em uma nova época geológica, o Antropoceno, caracterizado pelas ações humanas na composição e funcionamento da Terra (Steffen et al. 2007, Malhi et al. 2014). Nesse sentido, diante da intensa alteração dos ecossistemas, torna-se fundamental estudar profundamente os remanescentes florestais seu reconhecimento, quantificação e gerenciamento, inclusive sendo necessário um novo conjunto de ferramentas que possibilitem obter resultados coerentes com as demandas ecológicas atuais (Hobbs et al. 2009).

1.2. Estudo do ecossistema através de suas espécies e atributos funcionais

A ciência que busca entender a biodiversidade e o funcionamento dos ecossistemas tem crescido rapidamente em importância, especialmente após a publicação da Análise Ecossistêmica do Milênio, que destacou a relação entre os efeitos das mudanças climáticas e das alterações dos ecossistemas com bem-estar humano (MA 2005). Desde então, o número de estudos enfocando os aspectos funcionais dos ecossistemas tem aumentado, proporcionando uma melhor compreensão da ecologia através das interações dos organismos com o meio ambiente físico, químico e biológico, inclusive dos padrões e processos ecológicos que os geram (Diaz & Cabido 2001; Nock et al. 2016).

Os atributos ou características das plantas são o centro da ecologia funcional. Os atributos funcionais são características, usualmente medidas em nível de órgãos, como folhas, caule ou raízes e que indicam o balanço de carbono, nitrogênio e água da espécie, além de demonstrar seu desempenho no crescimento e sobrevivência e sua contribuição aos processos ecológicos (Naeem & Wright 2003)

Violle et al. (2007) definiram que atributos funcionais, de forma geral, são propriedades do organismo que são geralmente mensurados ao nível de indivíduo, comparadas entre espécies

e extrapoláveis para escalas ecossistêmicas. Além disso, são características que influenciam fortemente o desempenho do organismo, através de características morfológicas (tamanho da semente, massa corporal, massa foliar por área e densidade da madeira), bioquímicas (atividade de enzimas), fisiológicas (concentração de nutrientes, isótopos, temperatura, potencial fotossintético), estruturais (área basal), fenológicas (longevidade foliar) ou comportamentais (estratégias de alimentação, nível trófico) (Cornelissen et al. 2003; Pérez-Harguindeguy et al. 2013).

Nock et al. (2016) destacaram que a escolha de quais e quantos atributos funcionais devem ser analisados em estudos com essa abordagem não é tarefa trivial, afinal diferentes atributos irão resultar em funções variadas no ecossistema. Esses autores sugerem o uso de múltiplos atributos funcionais, contudo o número exato depende dos organismos e das respostas ecossistêmicas que se almeja alcançar. Eles ainda destacam que é recomendável uma seleção prévia dos atributos baseado na literatura, além de se considerar financiamento e infraestrutura para coleta de campo.

O caso mais clássico e dominante em estudos envolvendo estratégias funcionais é o Espectro da Economia Foliar (EEF; Wright et al. 2004), o qual auxilia na compreensão de tópicos diversos, inclusive das respostas da comunidade vegetal diante das mudanças no uso do solo (Nock et al. 2016). Esse espectro caracteriza uma demanda conflitante (“trade-off”) entre funções fisiológicas vitais de aquisição e conservação de recursos: em um extremo espécies com folhas que se desenvolvem com um padrão aquisitivo, de atividade metabólica elevada e baixa longevidade; em outro, espécies com folhas de desenvolvimento conservativo e alta longevidade (Messier et al. 2017).

O EEF pode fazer parte de espectros mais amplos que incluem raízes, ramos, e características refletindo a estratégia ecofisiológica da planta inteira (Reich 2014). O extremo

mais aquisitivo (“fast”) é caracterizado por espécies com baixa longevidade foliar e baixo investimento em biomassa nos órgãos vegetativos. No extremo mais conservativo (“slow”) estão incluídas espécies com alta longevidade e alto investimento em biomassa nos órgãos vegetativos (Wright et al. 2004; Messier et al. 2017).

Lohbeck et al. (2015) apontaram que há duas formas para avaliar os efeitos da biodiversidade nos ecossistemas através da abordagem por atributos funcionais, priorizando a diversidade ou a dominância. A análise com foco na diversidade - diversidade funcional (“functional diversity” – FD) - descreve a distribuição das espécies no espaço funcional (Mason et al. 2005) e destaca a redundância de estratégias e competição entre as espécies. A redundância de estratégias é positiva para o ecossistema e indica resiliência, um comportamento associado à manutenção ou recuperação do ecossistema após distúrbio (Laliberté et al. 2010) e uma forma de evitar a perda de espécies (Bihn et al. 2010). Baixa redundância funcional implica que os atributos são rapidamente perdidos quando há perda de biodiversidade (Pillar et al. 2013).

Por outro lado, a abordagem funcional baseada na dominância é alcançada através de uma análise ponderada dos efeitos dos atributos da espécie na comunidade como um todo, especialmente ponderado pela área basal ou abundância (Community-weighted mean - CWM) (de Vries & Bardgett 2016; Garnier et al. 2004). A direção da relação entre CWM e as funções do ecossistema pode ser negativa ou positiva, ou seja, atributos que promovem um aumento na obtenção de recursos (p.e. alta CWM de nutrientes na folha) aumentam as funções do ecossistema, enquanto que valores opostos indicam conservação de recursos e redução das funções do ecossistema (Garnier et al. 2004; Reich 2014).

As nervuras foliares são formadas por células do xilema e floema inseridos em tecido de parênquima e/ou esclerênquima, que, por sua vez, são envoltos por células da bainha vascular. Essas estruturas são distribuídas pela lâmina foliar hierarquicamente. A classificação

hierárquica pode levar em conta o tempo de formação, a expressão gênica durante o desenvolvimento (Sack & Scoffoni 2013), porém dois dos principais critérios são a ramificação e o diâmetro da nervura no ponto de ramificação. Geralmente há 2 ordens de nervuras maiores: as nervuras de primeira ordem (1ª) se originam no pecíolo e se estendem até o ápice da folha, nervuras de segunda ordem (2ª) possuem diâmetro menor e se ramificam das nervuras 1ªs, assim por diante, até as nervuras menores. Estas, estão presentes nas angiospermas em até 4 ordens hierárquicas terminado em aréolas, ou seja, as menores áreas de tecido foliar rodeadas por nervuras (Sack et al. 2012; Roth-Nebelsick et al. 2001).

As principais funções da nervação são o transporte de substâncias e a estabilização mecânica. O xilema fornece água e solutos para a folha, transporta hormônios (Taiz & Zeiger 2017; Roth-Nebelsick et al. 2001) e sua lignificação confere resistência mecânica à folha (Roth-Nebelsick et al. 2001; Niklas 1999). O floema exporta carboidratos produzidos na folha, bem como alguns hormônios de maneira limitada (Taiz & Zeiger 2017; Roth-Nebelsick et al. 2001).

Para o estudo das funções das nervuras tornou-se de fundamental importância quantificar as nervuras, pois elas podem determinar a eficiência desses processos fisiológicos e influenciar no custo de produção das folhas. Um dos parâmetros mais utilizados é a razão entre o comprimento total das nervuras e a área onde se localizam, a densidade de nervuras (VD), a distância entre nervuras (IVD) é utilizado como um indicador da densidade de nervuras e o número de aréolas dividido pela área do campo de referência (AL) e o número de aréolas na região foliar de interesse (Sack & Scoffoni 2013; Blonder et al. 2011; Roth-Nebelsick et al. 2001). AL reflete o quanto a nervação é redundante pois indica o número de porções totalmente delimitada por nervuras (Blonder et al. 2018), porém Price & Weitz (2014) alegaram que a variável está mais associada à distância entre os tecidos não fotossintéticos e que a reticulação (MESH) é mais robusta para quantificar a interconexão vascular, já que denota quantos caminhos alternativos existem nas nervuras caso ocorra um dano em algum segmento.

A nervação foliar está estreitamente relacionada a aspectos ecofisiológicos das plantas como taxa de assimilação fotossintética, condutância estomática, condutividade foliar (Boyce et al. 2009; Brodribb 2009; Sack & Scoffoni 2013), custo de produção da folha (Niinemets et al. 2007; Sack et al. 2012), e desse modo, propõe-se que propôs que a rede vascular fosse central no EEf (Blonder et al. 2011, 2014, 2015). As nervuras foliares também oferecem sustentação para o limbo (Niklas 1999; Niinemets et al. 2007; Sack et al. 2012) e, atualmente, acredita-se que foram fundamentais para a evolução das angiospermas, que com a VD maior do que os táxons mais basais, resultaram em uma condutividade hídrica foliar elevada e puderam suprir o mesófilo de água durante a transição Cretáceo-Terciário quando as concentrações de CO₂ atmosférico se tornaram mais baixas, possibilitando a dominância das plantas com flores no planeta (Feild et al. 2011; De Boer et al. 2012; Zwieniecki & Boyce 2014).

1.3. Projeto Temático ECOFOR

Esse trabalho é parte integrante do Projeto Temático Fapesp “ECOFOR: Biodiversidade e funcionamento de ecossistemas em áreas alteradas pelo homem nas Florestas Amazônica e Atlântica (nº do processo: 12/51872-5, iniciado em agosto de 2013 e finalizado em julho de 2018; Acordo de cooperação internacional BIOTA FAPESP/NERC RCUK), cujo objetivo geral é entender a influência do impacto das ações antrópicas e da fragmentação de habitat na diversidade e conservação das florestas tropicais, enfocando nos biomas Mata Atlântica e Amazônia.

O conhecimento sobre a estrutura e funcionamento de Florestas Tropicais preservadas é amplo, contudo, a extrapolação dos resultados obtidos nesses ecossistemas para florestas tropicais alteradas pelo homem (HMTF, em inglês) é pouco eficiente (Farah et al. 2017). Assim, a proposta desse Projeto Temático foi ampliar o conhecimento sobre essas florestas, que apesar

de estarem em ampla expansão ainda são pouco estudadas (Brancalion et al. 2013). Dentre as lacunas de conhecimento que o projeto visava discurrir estavam incluídas: i) Impactos das alterações humanas sobre o funcionamento do ecossistema, especialmente ciclagem de matéria orgânica, nutrientes e as relações entre os processos biofísicos, a biodiversidade, o solo e o clima; ii) conectar o funcionamento do ecossistema e caracteres biológicos, que podem fornecer pistas sobre a estabilidade e a resiliência das florestas degradadas; iii) compreender a capacidade de generalização dos dados, isto é, até que ponto resultados obtidos em uma dada Floresta Tropical podem ser extrapolados para florestas em outros continentes; iv) compreender o impacto e as consequências das alterações humanas a nível de paisagem e tempo, multi-escalas espaciais e temporais; v) reduzir a distância e o tempo entre a ciência e a tomada de decisão política. A presente tese de Doutorado ajudará a responder, em especial, três grandes aspectos do projeto temático: as lacunas i, ii, iii.

O Projeto ECOFOR visava ampliar os conhecimentos dos efeitos das ações humanas sobre a biodiversidade e a funcionalidade dos ecossistemas, bem como a provisão de serviços ambientais oferecidos por eles. O projeto focou em florestas tropicais alteradas, principalmente por incêndio e corte seletivo, além de comparações com florestas preservadas e estudos intensivos. Também estavam incluídas no Projeto Temático, propostas envolvendo levantamentos da diversidade florística e faunística dos fragmentos, bem como o funcionamento abaixo e acima do solo fornecendo subsídios para políticas públicas.

No estado de São Paulo, o desenho experimental do Projeto incluiu uma área extensa no Vale do Paraíba do sul em São Paulo (Fig. 1.1), sendo incluídos 4 parcelas permanentes dentro do Parque Estadual da Serra do Mar (Projeto Gradiente Funcional, no. 03/12595-7; Projeto Temático Biota Fapesp 2005/2010 sob coordenação do Prof. Carlos A. Joly) e 16 fragmentos florestais (classificados quanto ao tamanho e conectividade e altitude). Os levantamentos florísticos foram realizados sob a supervisão do Dr. Marcos Assis, UNESP, e

Dr. Luis Bernacci, IAC, e a análise de atributos funcionais foi coordenada pelo Dr. Marcos P.M. Aidar. O projeto temático foi coordenado pelo Dr. Carlos Joly e Dr. Jos Barlow.

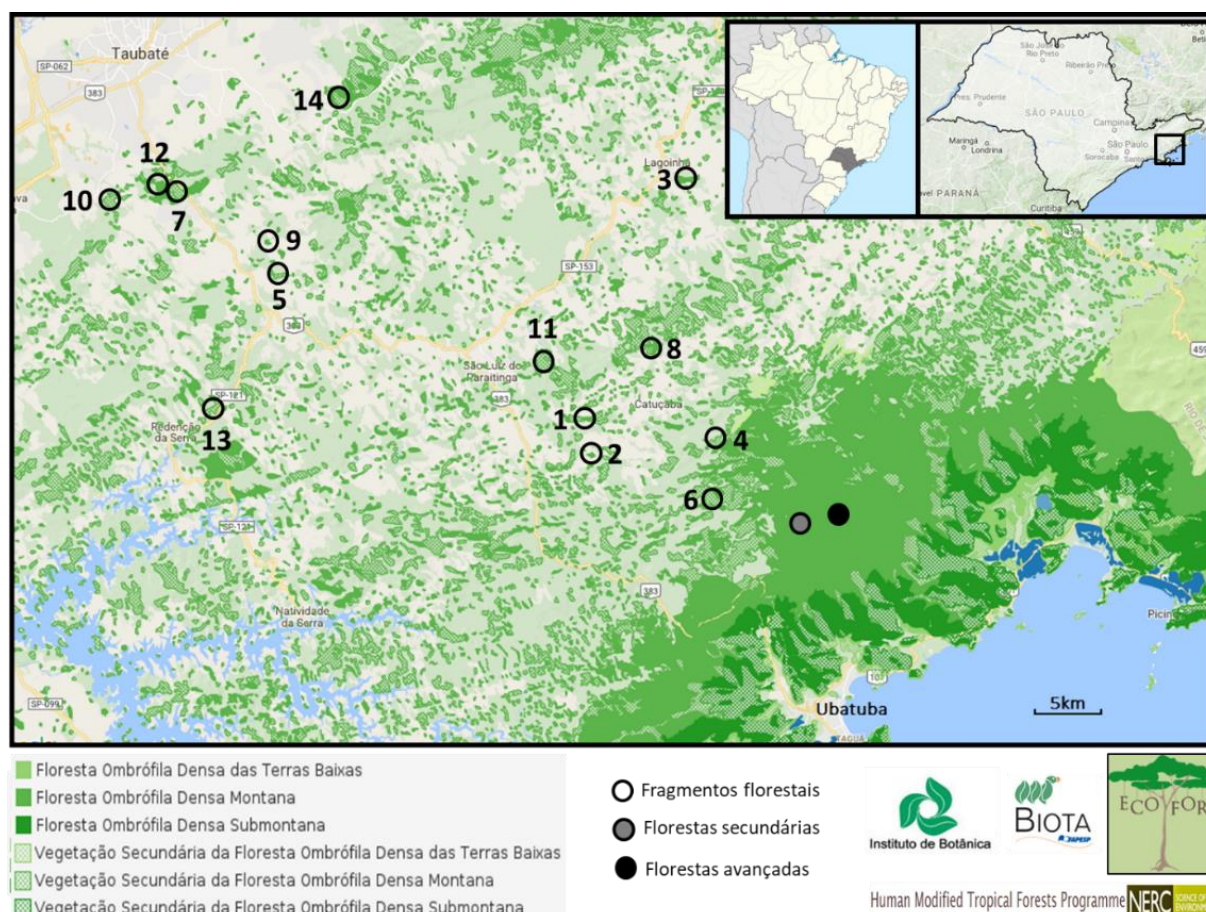


Figura 1.1. Área de estudo do projeto ECOFOR FAPESP/NERC RCUK, destacando as parcelas permanentes (Projeto Biota Gradiente Funcional) de floresta avançada e secundária (círculo cinza e preto, respectivamente). Fonte: Dr. André Rochelle, Projeto Fapesp 14/07851-9.

1.4. Objetivo Geral

A meta deste estudo é compreender a importância ecofisiológica da nervação foliar em áreas de Floresta Ombrófila Densa Montana (FODM) com diferentes níveis de perturbação antrópica no domínio da Mata Atlântica. A abordagem adotada neste trabalho foi definida pelo uso da dominância, especificamente enfocando nas espécies que representavam 70% de área

basal total das comunidades em estudo. A dominância é um fenômeno comum em ecossistemas naturais e com tendência de incremento frente à crescente pressão antrópica (Joly et al. 2014; Santos et al. 2008).

No Capítulo 2, verificou-se se as características funcionais da nervação foliar poderiam ser indicadoras da ação antrópica em espécies arbóreas florestais ocorrentes ao longo de um gradiente de perturbação. No Capítulo 3, estudou-se as características da nervação foliar, associadas a outras características fisiológicas do EEF e características estruturais do caule, na economia dessas espécies arbóreas. Os resultados obtidos fornecem subsídios para compreender como a nervação foliar influencia o desenvolvimento, o metabolismo de carbono e da água em espécies da Mata Atlântica, além de ampliar a compreensão do funcionamento dessa floresta, considerada um *hotspot* da biodiversidade, podendo auxiliar na formulação de políticas públicas de preservação e gestão de seus recursos (Joly et al., 2014).

Referências Bibliográficas

- Aide, T.M.; Clark, M.L.; Grau, H.R.; López-Carr, D.; Levy, M.A.; Redo, D.; Bonilla-Moheno, M.; Riner, G.; Andrade-Núñez, M. J. & Muñiz, M. 2013. Deforestation and reforestation of Latin America and the Caribbean (2001-2010). *Biotropica* 45: 262–271.
- Bihn, J.H.; Gebauer, G. & Brandl, R. 2010. Loss of functional diversity of ant assemblages in secondary tropical forests. *Ecology* 91:782-792.
- Blonder, B.; Salinas, N.; Bentley, L.P.; Shekin, A.; Orlando, P.; Porroa, C. 2018. Structural and defensive roles of angiosperm leaf venation network reticulation across an Andes-Amazon elevation gradient. *J Ecol.* <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12945>
- Blonder, B.; Violle, C.; Bentley, L.P.; Enquist, B.J. 2011. Venation networks and the origin of the leaf economics spectrum. *Ecol Lett* 14:91–100. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01554.x>

- Blonder, B.; Violle, C.; Bentley, L.P.; Enquist, B.J. 2014. Inclusion of vein traits improves predictive power for the leaf economic spectrum: A response to Sack et al. (2013). *J Exp Bot* 65:5109–5114. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru143>
- Blonder, B.; Vasseur, F.; Violle, C.; Shipley, B.; Enquist B.J.; Vile, D. 2015. Testing models for the leaf economics spectrum with leaf and whole-plant traits in *Arabidopsis thaliana*. *AoB Plants* 7:plv049. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plv049>
- Boyce C.K.; Brodribb T.J.; Feild T.S.; Zwieniecki M.A. 2009. Angiosperm leaf vein evolution was physiologically and environmentally transformative. *Proc R Soc B Biol Sci* 276:1771–1776. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.1919>
- Brancalion, P.H.S.; Melo, F.P.L.; Tabarelli, M. & Rodrigues, R.R. 2013. Restoration Reserves as Biodiversity Safeguards in Human Modified Landscapes. *Brazilian Journal of Nature Conservation*, 11(2):1-5.
- Brodribb T.J. 2009. Xylem hydraulic physiology: The functional backbone of terrestrial plant productivity. *Plant Sci* 177:245–251. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2009.06.001>
- Chazdon, R.L.; Harvey, C.A.; Komar, O.; Griffith, D.M.; Ferguson, B.G.; Martínez-Ramos, M.; Morales, H.; Nigh, R.; Soto-Pinto, L.; van Breugel, M. & Philpott, S. M. 2009a. Beyond reserves: a research agenda for conserving biodiversity in human-modified tropical landscapes. *Biotropica* 41:142–153.
- Cornelissen, J.H.C.; Lavorel, S.; Garnier, E.; Díaz, S.; Buchmann, N.; Gurvich, D.E.; Reich, P.B.; ter Steege, H.; Morgan, H.D.; v. d. Heijden, M.G.A.; Pausas, J.G. & Poorter, H. 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of Botany*, 51:335-380.

- De Boer H.J.; Eppinga M.B.; Wassen M.J.; Dekker S.C. 2012. A critical transition in leaf evolution facilitated the Cretaceous angiosperm revolution. *Nat Commun* 3:1221. <https://doi.org/10.1038/ncomms2217>
- De Vries, F.T. & Bardgett, R.D. 2016. Plant community controls on short-term ecosystem nitrogen retention. *New Phytologist*, 210(3): 861–874.
- Díaz, S.; Cabido, M. 2001 Vive la différence: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends Ecol Evol* 16:646–655. <https://doi.org/10.1348/026151005X50753>
- FAO 2011. State of the World's Forests. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. 165p.
- Farah, F.T.; Muylaert, R.L.; Ribeiro, M.C.; Ribeiro, J.W.; Manguiera, J.R.S.A; Souza, V.C.; Rodrigues, R.R. 2017. Integrating plant richness in forest patches can rescue overall biodiversity in human-modified landscapes. *Forest Ecology and Management*, 397: 78–88.
- Farinaci, J.S.; Ferreira, L.C & Batistella, M. 2013. Forest Transition and Ecological Modernization: Eucalyptus Forestry Beyond Good And Bad. *Ambiente & Sociedade*, XVI (2): 25-44.
- Field, T.S.; Brodribb, T.J.; Iglesias, A.; Chatelet, A.; Baresch, A.; Upchurch, G.R.; Mor, B.R.; Coiffard, C.; Kvacek, J.; Jaramillo, C. 2011. Fossil evidence for Cretaceous escalation in angiosperm leaf vein evolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:8363–8366.
- Gardner, T.A.; Barlow, J.; Chazdon, R.; Ewers R.M.; Harvey, C.A.; Peres, C.A.; Sodhi, N.S. (2009) Prospects for tropical forest biodiversity in a human-modified world. *Ecol Lett* 12:561–582. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01294.x>

- Garnier, E.; Cortez, J.; Billes, G.; Navas, M.L.; Roumet, C.; Debussche, M.; Laurent, G.; Blanchard, A.; Aubry, D.; Bellmann, A.; Neil, C. & Toussaint, J.P. 2004. Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*, 85:2630-2637.
- Hobbs, R.; Higgs, E. & Harris, J.A. 2009. 'Novel ecosystems: implications for conservation and restoration'. *Trends in Ecology & Evolution*, 24 (11):599-605.
- Joly, C.A.; Aidar, M.P.M.; Klink, C.A.; Mcgrath, D.G.; Moreira, A.G.; Moutinho, P.; Nepstad, D.C.; Oliveira, A.A.; Pott, A.; Rodal, M.J.N. & Sampaio, E.V.S.B. 1999. Evolution of the Brazilian phytogeography classification systems: implications for biodiversity conservation. *Ciência e Cultura*, 51(5/6): 331-348.
- Joly, C.A.; Metzger, J.P. & Tabarelli, M. 2014. Experiences from the Brazilian Atlantic Forest: ecological findings and conservation initiatives. *New Phytologist*. Tansley Review - doi: 10.1111/nph.12989
- Laliberté, E.; Wells, J.A.; Declerck, F.; Metcalfe, D.J.; Catterall, C.P. et al. 2010. Land-use intensification reduces functional redundancy and response diversity in plant communities. *Ecology Letters*, 13: 76-86.
- Lohbeck, M.; Lebrija-Trejos, E.; Martínez-Ramos, M.; Meave, J.A.; Poorter, L; et al. 2015. Functional Trait Strategies of Trees in Dry and Wet Tropical Forests Are Similar but Differ in Their Consequences for Succession. *PLOS ONE* 10(4): e0123741. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123741>
- MA. 2005. Millennium Ecosystems Assessment. World Resources Institute, Washington DC, USA.

- Malhi, Y.; Gardner, T.A.; Goldsmith, G.R.; Silman, M.R. & Zelazowski, P. 2014. Tropical forests in the Anthropocene. *Annual Review of Environment and Resources*, 39:125–159.
- Messier, J.; Lechowicz, M.J.; McGill, B.J.; Violle, C. & Enquist, B.J. 2017. Interspecific integration of trait dimensions at local scales: the plant phenotype as an integrated network. *Journal of Ecology* doi: 10.1111/1365-2745.12755
- MMA. 2010. Ministério do Meio Ambiente –. Mata Atlântica: manual de adequação ambiental / Maura Campanili e Wigold Bertoldo Schaffer. – Brasília: MMA/SBF, 2010. 96 p. ; il. color. : 29cm. (Série Biodiversidade, 35).
- Myers, N.; Mittermeier, R.A.; Mittermeier, C.G.; Fonseca, G.A.B. & Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403: 853-858.
- Naeem, S. & Wright, J.P. 2003. Disentangling biodiversity effects on ecosystem functioning: deriving solutions to a seemingly insurmountable problem. *Ecology Letters*, 6:567-579.
- Niinemets, Ü.; Portsmouth, A.; Tena, D.; Tobias, N.; Matesanz, S.; Valladares, F. 2007. Do we underestimate the importance of leaf size in plant economics? Disproportional scaling of support costs within the spectrum of leaf physiognomy. *Ann Bot* 100:283–303.
- Niklas, K.J. 1999. A mechanical perspective on foliage leaf form and function. *New Phytol* 143:19–31. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1999.00441.x>
- Nock, C.A.; Vogt, R.J.; Beisner, B.E. 2016. Functional Traits. In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. DOI: 10.1002/9780470015902.a0026282
- Pérez-Harguindeguy, N.; Díaz, S.; Garnier, E.; Lavorel, S.; Poorter, H.; et al. 2013. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Aust J Bot* 61:167–234. <https://doi.org/10.1071/BT12225>

- Pillar, V.D.; Blanco, C.C.; Müller, S.C.; Sosinski, E.E.; Joner, F.; Duarte, L.D.S. 2013. Functional redundancy and stability in plant communities. *Journal of Vegetation Science*, 24: 963–974.
- Price C.A.; Weitz J.S. 2014. Costs and benefits of reticulate leaf venation. *BMC Plant Biol* 14:234. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0234-2>
- Reich, P.B. 2014. The world-wide ‘fast-slow’ plant economics spectrum: a traits manifesto. *Journal of Ecology* 102: 275–301.
- 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.
- Roth-Nebelsick, A.; Uhl, D.; Mosbrugger, V.; Kerp, H. 2001. Evolution and Function of Leaf Venation Architecture: A Review. *Ann Bot* 87:553–566. <https://doi.org/10.1006/anbo.2001.1391>
- Sack L., Scoffoni C. 2013. Tansley review Leaf venation: structure, function, development, evolution, ecology and applications in the past, present and future. *New Phytol* 198:983–1000. <https://doi.org/10.1111/nph.12253>
- Sack L., Scoffoni C., McKown A.D.; Frole, K.; Raws, M.; Havran, J.C.; Tran, H.; Tran, T. 2012. Developmentally based scaling of leaf venation architecture explains global ecological patterns. *Nat Commun* 3:837.
- Santos, B.A.; Peres, C.A.; Oliveira, M.A.; Grillo, A.; Alves-Costa; C.P. & Tabarelli, M. 2008. Drastic erosion in functional attributes of tree assemblages in Atlantic forest fragments of northeastern Brazil. *Biological Conservation*, 141: 249-260.

- Silva, R. F. B.; Batistella, M.; Moran, E.F. 2017. Socioeconomic changes and environmental policies as dimensions of regional land transitions in the Atlantic Forest, Brazil. *Environmental Science & Policy*. 74: 14-22.
- SOS MA. 2019. Atlas dos Remanescentes Florestais da Mata Atlântica Relatório Técnico PERÍODO 2017-2018. SOS Mata Atlantica/INPE. https://www.sosma.org.br/wp-content/uploads/2019/05/Atlas-mata-atlantica_17-18.pdf
- Steffen, W.; Crutzen, P.J. & McNeill, J.R. 2007. The Anthropocene: Are humans now overwhelming the great forces of Nature? *Ambio*, 36: 614–621.
- Lincoln Taiz, Eduardo Zeiger, Ian Max Moller AM. 2017. *Plant Physiology and Development*, Sixth Edition, 6th edn.
- Violle, C.; Navas, M-L. & Vile, D. Kazakou, E.; Fortunel, C.; Hummel, I.; Garnier, E. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos*, 116 (5): 882–892.
- Wright, I.J.; Reich, P.B.; Westoby, M.; Ackerly, D.D.; Baruch, Z.; Bongers, F.; Cavender-Bares, J.; Chapin, T.; Cornelissen, J.H.C.; Diemer, M.; Flexas, J.; Garnier, E. et al. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, 428:821-827.
- Zwieniecki, M.A.; Boyce, C.K. 2014. Evolution of a unique anatomical precision in angiosperm leaf venation lifts constraints on vascular plant ecology. *Proc R Soc B Biol Sci* 281:20132829. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.2829>

Capítulo 2 – A anatomia da nervação foliar em nível de comunidade

2.1. Introdução

Os padrões da nervação foliar, ou arquitetura foliar, são estudados por pesquisadores da área da Botânica, tendo aplicação em diversas linhas de pesquisa como a Paleobotânica, a Paleoecologia, a Taxonomia, identificação de floras e evolução da forma e função das folhas, nas quais, frequentemente, é necessário se utilizar métodos quantitativos de análise. Para a obtenção de resultados satisfatórios, o desenvolvimento de métodos de visualização dos menores segmentos de nervuras em detalhe é de extrema importância (Vasco et al. 2014)

Uma dessas abordagens é a Ecologia Funcional que, explicando de forma sucinta, investiga como as variáveis ambientais definem a forma e a função das plantas ou como as características das plantas afetam fluxos de matéria e energia (Garnier et al. 2004). Neste caso, o critério de seleção das espécies costuma ser a dominância relativa acumulada, usualmente, em torno de 80%, podendo ser reduzida se o trabalho se tornar impraticável (Pérez-Harguindeguy et al. 2013a).

Realizar este tipo de trabalho em florestas tropicais é desafiador, porque certamente o pesquisador deverá amostrar um grande número de espécies, já que esses ecossistemas tropicais abrigam a maior biodiversidade terrestre do planeta (Andresen et al. 2018), acarretando uma ampla variedade morfológicas e anatomica. As nervuras podem revelar uma arquitetura fora do padrão geralmente descrito. A espécie *Calophyllum longifolium* (Calophyllaceae), nativa da Colômbia, possui nervação atípica entre as dicotiledôneas, suas nervuras 2árias possuem o desenvolvimento semelhante ao das nervuras menores, são numerosas, paralelas e interligadas por nervuras 3árias (Sack et al. 2012).

Esclereídes são encontradas em algumas espécies podendo assemelhar às nervuras

causando confusão, tricomas podem obstruir a visualização da arquitetura foliar e o processo de diafanização pode demorar de 1 a vários dias para apresentar um resultado satisfatório (Pérez-Harguindeguy et al. 2013).

Com este estudo pretendeu-se otimizar a metodologia de obtenção de características funcionais das nervuras foliares maiores e menores em escala de comunidades relatar dificuldades e maneiras de contorná-las, bem como sugerir uma abordagem prática e eficiente para o desenvolvimento de estudos sobre as nervuras foliares como uma maneira de compreender o funcionamento de ecossistemas.

2.2. Material e Métodos

2.2.1. Área de estudo

As áreas estudadas foram 4 parcelas permanentes do projeto Biota Gradiente instaladas no Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (NSV, 23° 17' a 23° 24' S; 45° 03' a 45° 11' O) (Fig. 2.1). A região está situada no domínio da Mata Atlântica, no limite entre os municípios de São Luiz do Paraitinga e Ubatuba, apresenta relevo com fortes declividades (24 a 37°) (Tabarelli et al. 1994), as altitudes variam entre 860 e 1.500m (Resolução da Secretaria do Meio Ambiente do Estado de São Paulo Nº 28, 1998) e o clima regional é do tipo subtropical úmido (Cwa) (Alvares et al. 2013). A precipitação média anual e mensal é de 2.180 mm e 60 mm, respectivamente, com máximas no período de dezembro a fevereiro e mínimas de junho a agosto. A vegetação do NSV é descrita como Floresta Ombrófila Densa Montana (FODM), entretanto sofreu antropização sendo atualmente formado por um mosaico composto por florestas secundárias, pastagens, plantio de *Eucalyptus* e floresta primária (Tabarelli et al. 1993). Cada uma possui forma quadrada com 100 x 100 m e apresenta níveis distintos de preservação.

NSV-01 – Floresta Avançada: localizada nas coordenadas 23° 19' 31" S e 45°04' 07" O, ao longo da Trilha do rio Itamambuca, NSV, constitui a floresta primária. A topografia é fortemente inclinada (40°), com altitudes variando de 1.050 a 1.100, aproximadamente (Padgurschi et al. 2011). O solo é classificado como Cambissolo háplico distrófico típico, argiloso, ácido (pH 3,5), com alta diluição de nutrientes e saturação de alumínio (Martins 2010).

NSV-03– Floresta Avançada: (23° 19' 38" S e 45° 4' 22.08" O), está localizada ao longo da Trilha do rio Itamambuca, Núcleo Santa Virgínia, e é recoberta por Floresta Ombrófila Densa Montana em estágio de sucessão avançada. A topografia é fortemente inclinada, com altitudes variando de 1000 a 1030 m. Como nas demais parcelas da encosta o solo é classificado como Cambissolo háplico distrófico típico, argiloso, ácido (pH ~4), com alta diluição de nutrientes e alta saturação de alumínio (Martins 2010).

NSV-04 – Floresta Secundária, tendo sofrido corte seletivo a cerca de 50-60 anos (coordenadas 23° 20' 36" S e 45° 04' 22" O), está localizada ao longo da Trilha do rio Itamambuca, Núcleo Santa Virgínia, e é recoberta por Floresta Ombrófila Densa Montana em estágio secundário avançado de sucessão (Padgurschi et al. 2011). A topografia é fortemente inclinada, com altitudes variando de 1010 a 1040 m. Como nas demais parcelas da encosta o solo é classificado como Cambissolo háplico distrófico típico, argiloso, ácido (pH ~4), com alta diluição de nutrientes e alta saturação de alumínio (Martins 2010).

NSV-05– Floresta Secundária, tendo sofrido corte raso a cerca de 50-60 anos (23°19.506' S; 45°05.678' O), está situada na microbacia do Ribeirão Casa de Pedra, NSV, na encosta onde está instalada uma torre micrometereológica desde 2007, de outro projeto temático. As altitudes variam entre 860 e 1.500 metros (Secretaria do Meio Ambiente, Resolução SMA-28) e o relevo apresenta-se fortemente escarpado (Tabarelli et al. 1993). O solo predominante na região é classificado como Cambissolo Háplico Tb Distrófico típico (Martins 2010). A parcela é constituída principalmente de floresta secundária por ser uma área perturbada por corte raso

(Marchiori 2012).

2.2.2. Coleta do material vegetal

As espécies foram identificadas previamente por especialistas envolvidos no Projeto Temático Gradiente Funcional, sendo que todos os indivíduos nas áreas de amostragem receberam uma placa com um código de identificação e mapeadas a fim de facilitar sua localização em campo. A coleta das características funcionais foi baseada na dominância das espécies (abundância) em cada parcela considerando suas áreas basais (somatória da área da secção transversal dos troncos à altura do peito, derivado do diâmetro à altura do peito - DAP).

Devido à inviabilidade de se coletar todas as espécies presentes nas parcelas optamos por coletar 3 indivíduos das espécies que compõem 70% da área basal total ($DAP > 5\text{ cm}$). Além disso, de acordo com a teoria “trait driver theory”, espera-se que a dominância reflita também um ótimo metabólico, indicando quais espécies estão mais adaptadas àquele ambiente (Enquist et al. 2015). Destes indivíduos, um ramo exposto ao sol foi coletado, suas folhas e secções dos caules foram utilizados para a medida das características funcionais.

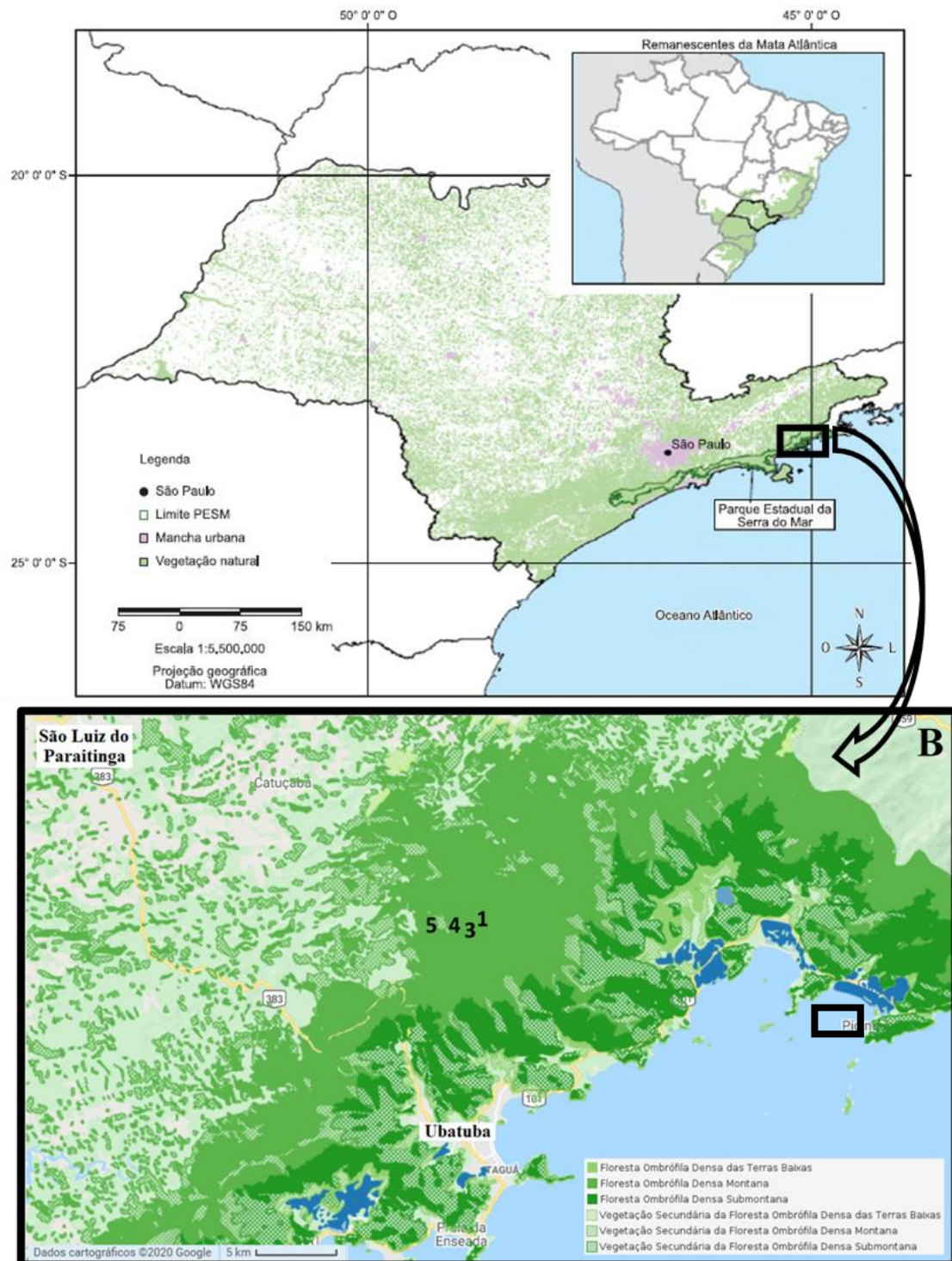


Figura 2.1 – A. Localização das áreas de estudo no Parque Estadual da Serra do Mar (PESP), Núcleo Santa Virgínia; B. Localização das 4 parcelas permanentes do projeto Biota Gradiente (NSV, 23°17' a 23° 24'S; 45°03' a 45° 11'O): 1 - NSV-01 – Floresta Avançada; 3 - NSV-03 – Floresta Avançada; 4 - NSV-04 – Floresta Secundária (corte seletivo); e 5 - NSV-05 – Floresta secundária (corte raso). Adaptado de Joly et al. (2012); <http://sinbiota.biota.org.br/atlas/> (Joly et al. 2012)

Para a obtenção dos parâmetros de trocas gasosas, os ramos coletados foram

transportados até o alojamento no Parque Estadual da Serra do Mar (PESM – NSV), quando então tiveram suas bases submergidas em água, excisadas a fim de se restaurar a coluna d'água no xilema e permaneceram nessas condições por pelo menos 12h, quando as medidas de fotossíntese foram tomadas e as folhas coletadas para a obtenção de todas as características funcionais estudadas nesta tese.

2.2.3. Diafanização das folhas e visualização das nervuras

Para a determinação dos parâmetros da nervação foliar uma folha de cada ramo individual foi utilizada. As nervuras **1árias e 2árias** (Fig. 1.3) foram consideradas nervuras maiores, as nervuras de ordem igual ou maior do que 3 foram consideradas menores de acordo com Ellis et al. (2009), embora nervuras 3árias possam ser consideradas nervuras maiores considerando o desenvolvimento da foliar (Sack et al. 2012). As folhas inteiras tiveram seus pecíolos removidos e foram diafanizadas e montadas em placas de vidro ou lâminas para microscopia lisas de 26 x 76 mm. Folhas muito grandes foram diafanizadas coradas e posicionadas entre duas lâminas de transparência de acetato sem meio de montagem para a imediata digitalização em scanner de mesa.

A diafanização foi adaptada de (Pérez-Harguindeguy et al. (2013). O material foi imerso durante um intervalo de 7 a 14 dias em uma solução de hidróxido de sódio 5% para se tornar translúcido, em seguida, foi lavado com água e transferido para uma solução comercial de hipoclorito de sódio diluído a 2%, permanecendo o tempo necessário para se tornar branco (cerca de 5 a 30 minutos). Após este procedimento o tecido foi lavado repetidamente com água destilada para a retirada do alvejante. As folhas diafanizadas foram mantidas em etanol 50 %, coradas com safranina 5%, desidratadas em série etanólica (80%, 90% e 100%) e, imersas em acetato de butila. Dependendo do tamanho, as folhas foram montadas em lâminas de vidro de 26x76 mm, 50x76 mm, 100x150 mm e 150x200 mm, mas a maioria foi montada em

transparências de acetato, com o meio de montagem permanente e bálsamo do Canadá. As maiores folhas foram posicionadas entre duas lâminas de transparência de acetato sem meio de montagem para a imediata digitalização da imagem em escâner de impressora multifuncional.

2.2.4. Obtenção das imagens

As folhas foram fotografadas com auxílio de câmera digital Canon EOS Rebel T3i ou foram escaneadas em impressora multifuncional Lexmark MX810de. As imagens dos detalhes das nervuras foram capturadas por uma câmera de vídeo Olympus® Q-Ccolor 5 acoplada a um microscópio Olympus® BX53 com as objetivas de 4 e 10 x e resolução de 390 pixel mm⁻¹. As nervuras **1árias e 2árias** (Fig. 2.2) foram consideradas nervuras maiores, as nervuras de ordem igual ou maior do que 3 foram consideradas menores de acordo com Ellis et al. (2009).

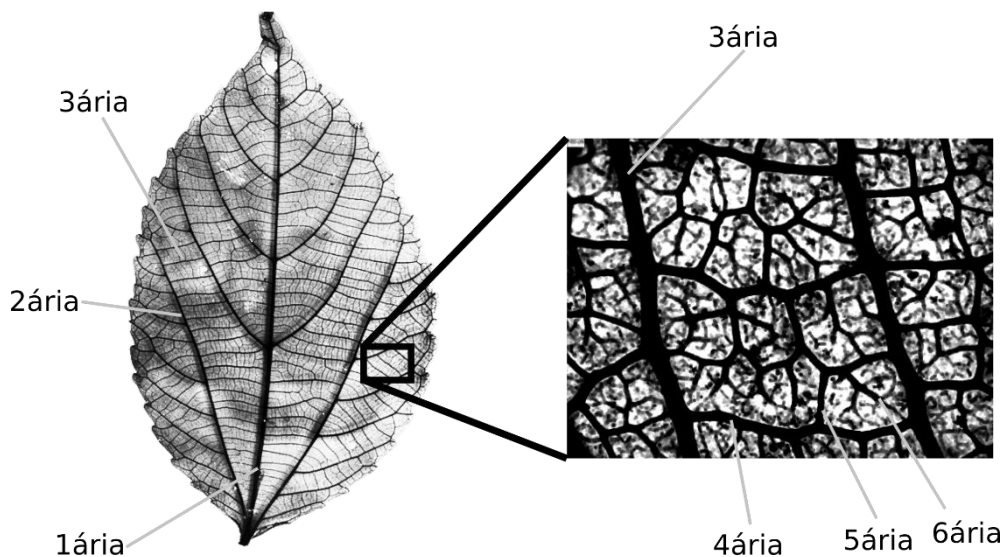


Figura 2.2 – Hierarquização das nervuras foliares: nervura primária parte da base da folha (pecíolo), enquanto as de ordem superior se unem as de ordem imediatamente inferior a elas.

2.3. Resultados e Discussão

O presente trabalho exigiu bastante tempo e dedicação para cada uma das atividades propostas. Os trabalhos em campo, o processamento do material vegetal nos laboratórios a organização das amostras, fotografias e dados, assim como o aprendizado de uso dos programas de MATLAB® (Mathworks, 2017) para a medição dos atributos funcionais da nervação foliar e dos códigos do GNU R (Core Team, 2013) para se efetuar as análises estatísticas foram extensos.

O protocolo de diafanização utilizado foi o de Pérez-Harguindeguy et al. (2013), que é baseado em outros protocolos sobre estudos da nervação foliar. Tal metodologia mostrou-se muito satisfatória para a maioria das folhas das espécies estudadas, havendo a necessidade de adaptações (manuseio das amostras e tempo em cada reagente) de acordo com as características estruturais da folha (espessas ou delgadas, pequenas ou grandes, pilosas ou com presença de esclereídes que podem ser confundidas com nervuras), conforme mencionados pelos autores da técnica.

Antes de dar início à diafanização, primeiramente houve a necessidade de organizar grande parte das amostras que foram coletadas antes do início efetivo deste do projeto, o que tomou bastante tempo (cerca de quinze dias cada parcela). A triagem dos dados de coleta foi um desafio, pois foram coletados por diferentes membros do grupo, então foi necessário reunir as planilhas e, depois, fazer um longo trabalho de curadoria. Para cada parcela, a diafanização demandou aproximadamente 2 semanas, a montagem das lâminas consumiu 2 semanas, sendo necessário cerca de 1 mês para a secagem das lâminas e 1 semana para captura de fotos. A análise das imagens demorou em torno de 1 semana e a análise estatística, aproximadamente um dia com scripts definidos a priori.

Apesar da morosidade, a capacidade de processamento de material foi otimizada ao

longo do tempo e a qualidade das imagens obtidas foi elevada como decorrência da experiência pessoal no trato do material e devido a otimização de toda a metodologia aplicada ao trabalho anatômico (Fig. 2.3.).

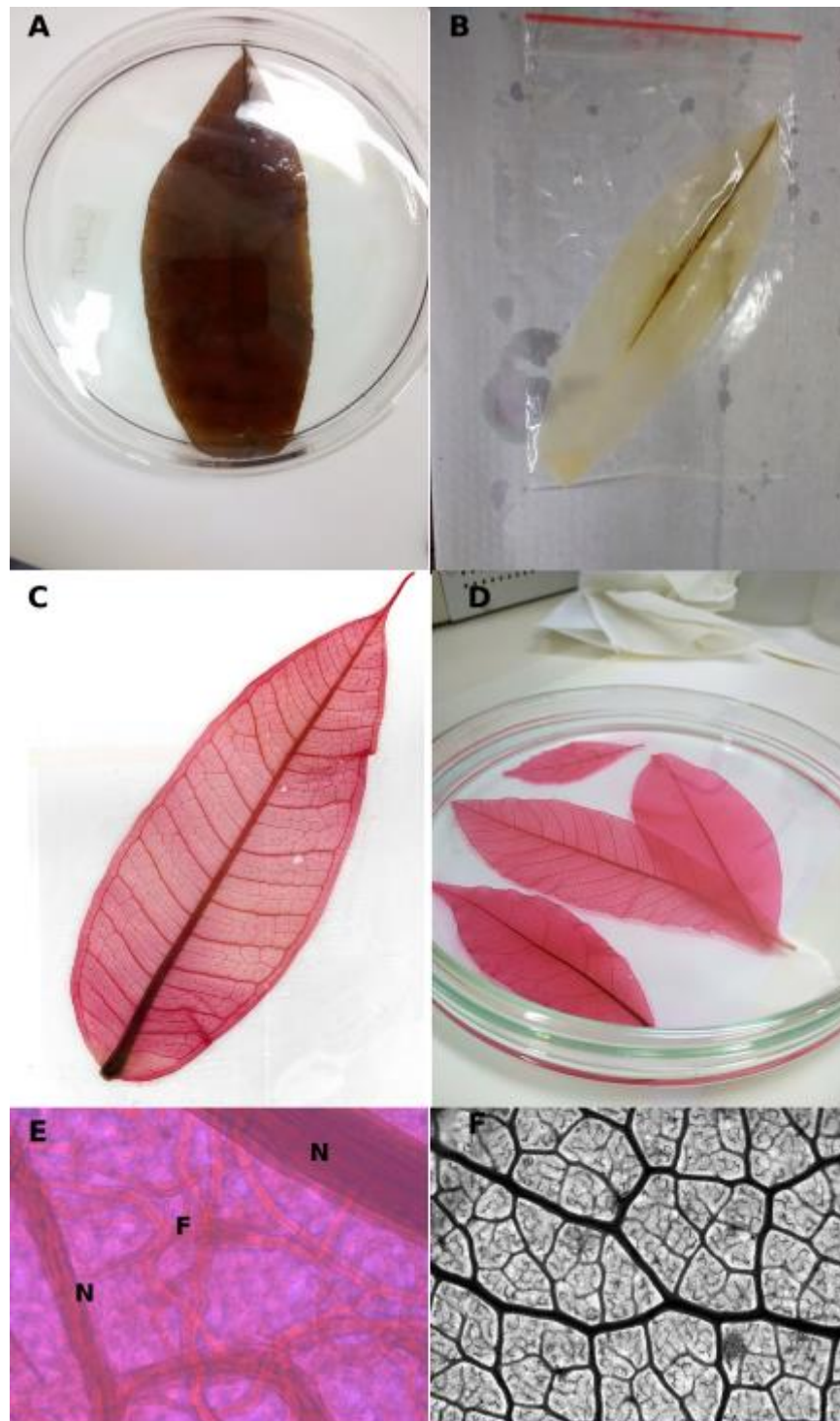


Figura 2.3 - Protocolo de diafanização da folha e captura de imagem digital. (A-B) Folha tratada com hidróxido de sódio 5 % para ficar translúcida e, posteriormente, clarificada com hipoclorito

de sódio comercial diluído a 25 % para a retirada dos pigmentos. (C) Imagem da folha diafanizada, corada com safranina, obtida com scanner. (D) Folhas diafanizadas e coradas em processo de desidratação em série etanólica, antes da obtenção da imagem digital. (E) Imagem das nervuras (N) de *Chrysophillum viride* e das fibras (F) associadas aos feixes vasculares e mesofilo, obtida por câmera digital acoplada a um microscópio óptico, aumento de 20 x. (F) Imagem de uma lâmina histológica de *Alchornea triplinervia* ajustada por programa de MATLAB, mostrando a escala de cinza com ajuste de contraste para aumentar a visualização das nervuras, aumento de 4 x.

Experimentou-se aquecer a solução de hidróxido de sódio 5% a 60° C para acelerar a diafanização, porém o volume utilizado trouxe complicações. Quando havia vazamento ou escoamento da solução, ela podia atingir os equipamentos com a possibilidade de danificá-los. Adicionalmente, foi necessário um recipiente de vidro do tipo Pirex para o processo, o que não é ideal para se trabalhar com uma solução básica, por isso, decidimos não prosseguir com essa metodologia.

As folhas de *Guapira opposita*, *Miconia cabucu*, entre outras, exigiram um tempo prolongado para ficarem translúcidas e, por isso, foram mantidas por mais tempo na solução de hidróxido de sódio até que ficassem bem transparentes, pois o tratamento posterior com hipoclorito de sódio é mais agressivo para as estruturas anatômicas.

Algumas espécies, como *Croton floribundus* (Euphorbiaceae), exigiram maior cautela pois suas folhas são sensíveis ao protocolo de diafanização, podendo se danificar durante o processo. *Schefflera angustissima* apresentou contaminação por fungos, que coraram em safranina, impedindo assim, a mensuração das nervuras em algumas lâminas histológicas. Outras espécies possuem características anatômicas que dificultam ou, até mesmo impossibilitam a visualização das nervuras em lâminas montadas com material diafanizado. Foram obtidos bons resultados com *Alchornea triplinervia* (Euphorbiaceae), que apresentou nervuras terminais, provavelmente, pouco lignificadas e por isso, necessitou do uso

de uma solução de safranina em maior concentração.

Chrysophyllum viride (Fig. 2.4 A) revelou estruturas delgadas semelhantes a dutos acompanhando as nervuras foliares. A princípio pensamos que se tratava da continuação dos feixes vasculares, isso resultou em uma medida superestimada da densidade de nervuras. Cogitou-se serem laticíferos, que são estruturas secretoras alongadas, geralmente especializadas no transporte do látex, associadas aos feixes vasculares, podendo formar anastomoses (Pickard 2006), que estão presentes por toda a família Sapotaceae usualmente acompanhando os feixes vasculares, às vezes, incluído no mesofilo (Metcalf & Chalk 1950). Entretanto, notamos que as estruturas eram coradas intensamente por safranina, sugerindo que eram lignificadas como esclereíde ou fibra. Solereder (1908) relatou a presença de fibras no mesofilo de folhas de espécies da família Sapotaceae, no gênero *Micropholis*, cujas estruturas apresentavam espessamento de lignina espiralado, como nós observamos em *Chrysophyllum viride*. Rao (1959) descreveu fibras semelhantes a esclereídes em *Manilkara hexandra* (Sapotaceae) adjacentes às nervuras maiores e nervuras terminais. As estruturas são, portanto, fibras. A espécie em questão é dominante nas parcelas mais avançadas (NSV 1 e 3), entre 20-30% de área basal relativa e, por isso, foi necessário medir novamente a densidade de nervuras. Considerou-se todos os segmentos visíveis exceto os segmentos terminais que formavam uma rede tridimensional sem relatos semelhantes na literatura sobre nervação.

Algumas espécies como *Piptocarpha macropoda* possuem muitos tricomas que foram de fácil extração com a utilização de uma escova de dentes quando a folha ainda se encontrava desidratada. *Tibouchina pulchra* (Fig. 2.4 B) também apresentou tricomas em excesso, mas de difícil retirada e, neste material, tentou-se utilizar lixas d'água ou a remoção da epiderme (dissociação), mas sem sucesso. A espécie possui esclereídes que se estendem dos tricomas até o mesofilo semelhantes às de outras Melastomataceae (Somavilla & Graciano-Ribeiro 2011), o que inviabilizou a obtenção de material anatômico adequado para análise de nervação. A

espécie está presente apenas na parcela NSV-05, onde apresenta baixa dominância com aproximadamente 4 % da área basal relativa.

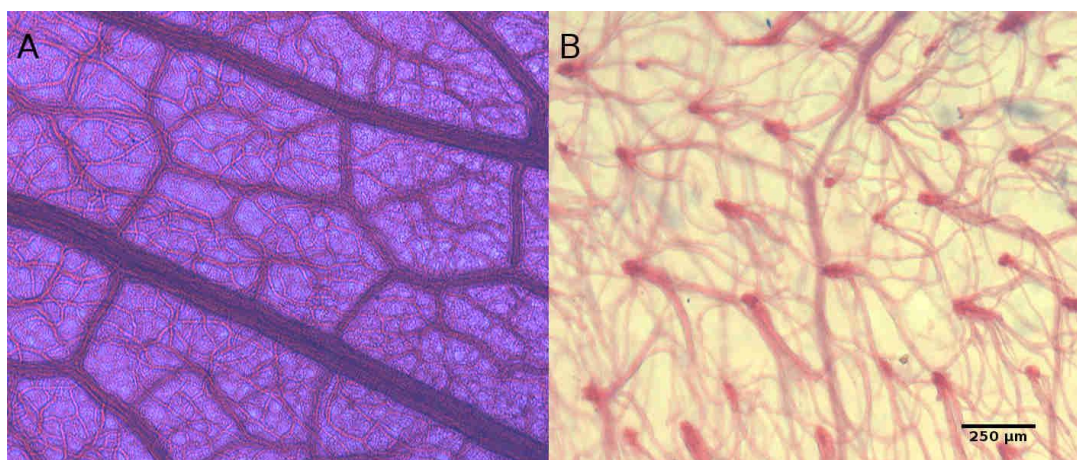


Figura 2.4 – (A) Sobreposição das nervuras menores e fibras em folha de *Chrysophillum viride*. (B) Tricomas obstruindo a visão das nervuras na espécie *Tibouchina pulchra*.

Inicialmente sugerimos dividir as folhas em seu plano de simetria. Uma metade seria utilizada para a obtenção de parâmetros macroscópicos como o comprimento das nervuras 1árias e 2árias. A outra metade, para a obtenção de parâmetros microscópicos como o comprimento das nervuras 3árias e menores. No entanto, para muitas espécies, as nervuras menores são visíveis ao microscópio se montadas integralmente, por isso, este foi o procedimento adotado, o que irá evitar maiores dificuldades no caso de limbos assimétricos.

Espécies como a *Alchornea triplinervia* possuem nervuras menores de difícil visualização. No caso de materiais semelhantes, além das lâminas contendo a folha inteira, pode ser necessária a realização de novas diafanizações em pequenos fragmentos foliares (de no mínimo 1cm²) e uso de outros corantes. A montagem foi em lâminas histológicas convencionais de 26 x 76 mm assim pode-se melhorar a qualidade e agilidade do processo. Além disso, experimentaremos outros corantes.

Em geral, as folhas diafanizadas foram montadas em lâminas de vidro de 26 x 76 mm,

50 x 76 mm, 100 x 150 mm e 150 x 200 mm e, a maioria, em transparências de acetado, que são mais leves, de manuseio fácil e de menor custo se comparadas ao vidro. Para a confecção de lâminas permanentes, o meio de montagem escolhido foi o bálsamo do Canadá, pois permite que a montagem das lâminas e a captura de imagens digitais sejam feitas em dias diferentes, permitindo que haja maior dedicação e eficiência em cada parte do protocolo.

As parcelas NSV-01 e NSV-03 apresentaram espécies com folhas de tamanho relativamente grandes como *Bathysa australis* e *Myrcia spectabilis* (lâminas foliares de área aproximada de 300 cm²), o que dificultou a montagem das amostras devido a morosidade na desidratação em série etanólica e suas nervuras centrais salientes impossibilitavam que as placas de vidro ou transparências fossem posicionadas adequadamente, resultando em lâminas histológicas espessas e grandes e de difícil manuseio em microscópio. Por isso, optamos por diafanizar e colorir as folhas maiores, colocá-las entre transparências ainda hidratadas, capturar a imagem em “scanner” para mensurar as nervuras maiores e, posteriormente, seccionar fragmentos pequenos para a montagem de lâminas histológicas menores (26 x 76 mm) para a obtenção dos dados de nervuras menores.

A utilização de alguma linguagem de programação como R ou MATLAB é imprescindível para um trabalho em Ecologia, pois foi necessária para se organizar a grande quantidade de dados gerados um tempo adequado e garantir a reprodutibilidade e transparência das análises. Porém, o aprendizado não é fácil ou trivial.

2.4. Conclusão

Apesar da grande dificuldade inerente no desenvolvimento desse estudo de anatomia foliar, foi possível o estabelecimento através da adaptação de metodologia para o estudo das características funcionais das nervuras foliares em escala de comunidade, através da obtenção de imagens de boa qualidade para a análise realizada automaticamente pelos programas de

computador e desse modo, viabilizando essa abordagem nos estudos sobre a Ecofisiologia da nervação, cujos resultados são apresentados nos próximos capítulos.

Referências Bibliográficas

- Alvares, C.A.; Stape, J.L.; Sentelhas, P.C.; Gonsalves, J.L.M.; Spavorel, G. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol Zeitschrift* 22:711–728.
<https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- Blonder, B.; Violle, C.; Bentley, L.P.; Enquist, B.J. 2011. Venation networks and the origin of the leaf economics spectrum. *Ecol Lett* 14:91–100. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01554.x>
- Ellis, B.; Daly, D.C.; Hickey, L.J.; Johnson, K.R.; Wilf, P.; et al. 2009. *Manual of Leaf Architecture*. Cornell University Press, Ithaca.
- Enquist B.J.; Jon N.; Bonser, P.S.; Cyrille, V.; Webb, C.T.; et al. 2015. Scaling from Traits to Ecosystems: Developing a General Trait Driver Theory via Integrating Trait-Based and Metabolic Scaling Theories
- Garnier, É.; Cortez, J.; Billes, G.; Navas, M-L. 2004. Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology* 85:2630–2637.
<https://doi.org/10.1890/03-0799>
- GIMP - GNU Image Manipulation Program. <https://www.gimp.org/>. Acessado 14 Jul 2020
- Joly, C.A.; Assis, M.A.; Bernacci, L.C.; Tamashiro, J.Y.; Campos, M.C.; et al. 2012. Florística e fitossociologia em parcelas permanentes da Mata Atlântica do sudeste do

- Brasil ao longo de um gradiente altitudinal. *Biota Neotrop* 12:125–145.
<https://doi.org/10.1590/S1676-06032012000100012>
- Marchiori N.M. 2012. Aspectos funcionais da floresta ombrófila densa montana, PESM. XXXIII:81–87. <https://doi.org/10.1007/s13398-014-0173-7.2>
- Martins, S.C. 2010. Caracterização dos solos e serapilheira ao longo do gradiente altitudinal da Mata Atlântica, estado de São Paulo. Universidade de São Paulo.
- MATLAB. 2017. versão 9.3.0 (R2017a), Natick, Massachusetts: The MathWorks Inc.
- Metcalf, C.R.; Chalk, L. 1950. *Anatomy of the dicotyledons*.
- Padgurschi, M.D.C.G.; Pereira, L.D.S.; Tamashiro, J.Y.; Joly, C.A. 2011. Composição e similaridade florística entre duas áreas de Floresta Atlântica Montana, São Paulo, Brasil. *Biota Neotrop* 11:139–152. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032011000200014>
- Pérez-Harguindeguy, N.; Díaz, S.; Garnier, E.; Lavorel, S.; Poorter, H.; et al. 2013. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Aust J Bot* 61:167–234. <https://doi.org/10.1071/BT12225>
- R Core Development Team. 2015. R: a language and environment for statistical computing, 3.2.1. Doc. Free. available internet <http://www.r-project.org>
- Rao, T.A. 1959. Origin and development of sclerenchymatous idioblasts in leaf of *Manilkara hexandra* (Roxb.) Dubard. *Bot Surv India* 27–31
- Sack L., Scoffoni C., McKown A.D.; Frole, K.; Raws, M.; Havran, J.C.; Tran, H.; Tran, T. 2012. Developmentally based scaling of leaf venation architecture explains global ecological patterns. *Nat Commun* 3:837.

- Solereder, H. 1908. Systematic Anatomy of the Dicotyledons A Handbook for Laboratories of Pure and Applied Botany. Clarendon Press, Oxford
- Somavilla, N.S.; Graciano-Ribeiro, D. 2011. Análise comparativa da anatomia foliar de Melastomataceae em ambiente de vereda e cerrado sensu stricto. Acta Bot Brasilica 25:764–775. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062011000400004>
- Tabarelli, M.; Villani, J.P.; Mantovani, W. 1993. Aspectos da sucessão secundária em trecho da Floresta Atlântica no Parque Estadual da Serra do Mar, SP. Rev do Inst Florestal, São Paulo 5:95–112
- Vasco, A.; Thadeo, M.; Conover, M.; Daly, D.C. 2014. Preparation of samples for leaf architecture studies, a method for mounting cleared leaves. Appl Plant Sci 2:1400038. <https://doi.org/10.3732/apps.1400038>

Capítulo 3 – Consequências da perturbação antrópica nas características funcionais da nervação foliar em comunidades arbóreas da Mata Atlântica

3.1. Introdução

A Mata Atlântica é a floresta brasileira mais impactada pela ação antrópica, localizada próxima ao litoral foi o primeiro bioma a ser explorado pelos colonizadores europeus através do extrativismo e, posteriormente, parcialmente substituída pelos grandes centros, monoculturas (p.e. café, cana de açúcar) e pecuária (Tabarelli et al. 2005; Torres et al. 2007; Joly et al. 2014). Estima-se que a cobertura remanescente seja 12,3% da cobertura original no país e 16,3% no Estado de São Paulo (SOS MA 2019) sendo formada por poucas porções de floresta tardia, muitos fragmentos florestais pequenos que apresentam graus variados de perturbação, florestas secundárias, recentes e antigas, e em recuperação após o abandono de cultivos e pastos, pequenas regiões de florestas monitoradas em regeneração, trechos agroflorestais e plantações de árvores exóticas como pinheiro e eucalipto (Chazdon 2008; Fonseca et al. 2009; Metzger et al. 2009).

Essas perturbações têm causado mudanças drásticas na abundância de espécies como o empobrecimento da composição de espécies arbórea em trechos da MA afetados pelo efeito de borda e a dominância de determinadas espécies sobre outras (Silva et al. 2000; Oliveira et al. 2008; Farah et al. 2014; Joly et al. 2014), o que possivelmente, leva a diversidade funcional reduzida (Lopes et al. 2009), perda de informação filogenética (Santos et al. 2010; Arroyo-Rodríguez et al. 2012), dessecação do habitat e limitação da dispersão de sementes (Silva et al. 2000; Oliveira et al. 2008; Melo et al. 2013).

As características funcionais da nervação foliar podem ajudar a compreender como o clima afeta as comunidades vegetais (Blonder & Enquist 2014), além de poderem variar de

acordo com fatores abióticos aos quais a planta está exposta ou ao grupo funcional ao qual ela pertence (Sack & Scoffoni 2013). Isso pode ser útil, pois a perturbação altera as variáveis microclimáticas de uma floresta como luminosidade e temperatura (Fauset et al. 2017, 2018). Dentre os parâmetros da nervação, a densidade de nervuras (VD) quantifica o comprimento total das nervuras em uma determinada área da folha. Algumas características como o número de aréolas por área (AL) e a reticulação (MESH) medem o quanto as nervuras são interconectadas, outras como a “árvore de abrangência mínima” (MST - *minimum spannig tree*) e “nervuras de terminação livre” (FEV – *free ending veins ratio*), medem e indicam, respectivamente, a hierarquização que seria uma grandeza oposta à interconexão (Price & Weitz 2014; Blonder et al. 2018).

Geralmente, folhas com maior VD são mais adaptadas a maiores alturas de inserção na copa de uma árvore, luminosidade intensa, e baixa disponibilidade de água no solo e aridez do ambiente (Kull & Herbig 1994; Roth-Nebelsick et al. 2001; Zwieniecki et al. 2004). Sob essas condições, uma maior VD significa maior quantidade de vasos para a condução de água e carboidratos. VDs mais baixas são encontradas geralmente em espécies mais tolerantes à sombra (Maximov 1931; Grubb 1998; Scoffoni et al. 2011), entretanto muitas espécies de florestas tropicais que são tolerantes à sombra e se estabelecem no sub-bosque possuem densidade de nervuras intermediária mesmo quando atingem o dossel (Sack & Frole 2006)

Para compreender como as características funcionais respondem às condições ambientais resultado em uma composição de espécies em uma comunidade foi desenvolvido o conceito de média ponderada da comunidade, que consiste na média de uma característica funcional ponderada pela dominância das espécies de plantas da parcela onde se encontram. Esse enfoque pode ser capaz de revelar a um ótimo funcional da comunidade (Robert & María 2016).

O objetivo deste trabalho foi validar as características funcionais da nervação foliar como indicadores da perturbação da floresta por meio da análise dos parâmetros das nervuras. A nossa hipótese é que a VD será o principal indicador da ação antrópica, outras características que se correlacionam fortemente com a VD. Para isso as características funcionais da nervação foliar foram obtidas das espécies mais dominantes de 4 parcelas com níveis distintos de perturbação: NSV-01 (madura), NSV-03 (madura), NSV-04 (corte seletivo, secundária), NSV-05 (corte raso, secundária) e verificou-se qual variável explicava melhor a diferença entre as 4 comunidades. A hipótese deste trabalho é que espécies mais aquisitivas seriam mais adaptadas às parcelas mais perturbadas, exibiriam maior VD e isso possibilitaria altas taxas de trocas gasosas e crescimento rápido e espécies conservadoras apresentariam menor VD, resultando em uma estratégia ecofisiológica mais conservadora.

3.2. Material e Métodos

3. 2. 1. Área de estudos

As áreas estudadas foram 4 parcelas permanentes do projeto Biota Gradiente Funcional instaladas no Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (NSV, 23° 17' a 23° 24' S; 45° 03' a 45° 11' O) conforme apresentado no item capítulo 1, item 1.2.1. acima (Fig. 1.2).

3.2.2. Coleta do material vegetal

A coleta das espécies vegetais selecionadas foi realizada segundo descrito no Capítulo 1, item 1.2.2. Coleta do material vegetal

3.2.3. Obtenção e análise de imagens

As folhas foram fotografadas com auxílio de câmera digital Canon EOS Rebel T3i ou foram escaneadas em impressora multifuncional Lexmark MX810de. As imagens dos detalhes das nervuras foram capturadas por uma câmera de vídeo Olympus® Q-Ccolor 5 acoplada a um microscópio Olympus® BX53 com as objetivas de 4 e 10 x e resolução de 390 pixel mm⁻¹.

As nervuras **1árias e 2árias** (Fig. 2.2) foram consideradas nervuras maiores, as nervuras de ordem igual ou maior do que **3** foram consideradas menores de acordo com Ellis et al. (2009).

As características funcionais da nervação foliar foram mensuradas de modo semiautomático. As fotos originais foram aprimoradas por uma equalização do contraste e convertidas a uma escala de cinza com o *software* MATLAB® (Mathworks, 2017), as nervuras foram contornadas em vermelho em uma camada adicional de imagem, outra camada adicional constituiu o fundo da imagem em amarelo. O processo foi executado com o auxílio de uma mesa digitalizadora WACOM® Intuos® PTH451L e do GNU GIMP (Fig. 3.1).

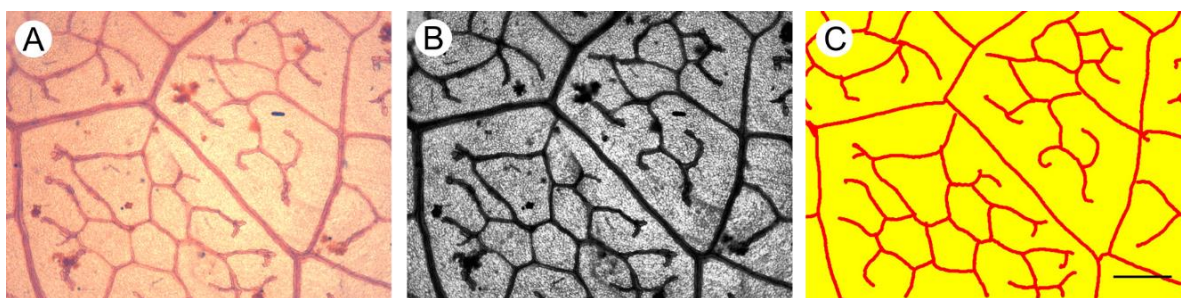


Figura 3.1 - Nervuras das espécies *Guapira opposita*. (A) Imagem original. (B) Imagem em escala de cinza com ajuste de contraste. (C) Imagem da nervação contornada sob fundo amarelo.

A seguir os programas do MATLAB (Blonder et al. 2011) identificaram os traços em vermelho como segmentos da nervação e o fundo amarelo como a área de interesse (Fig. 3.1.). A partir das medidas do comprimento dos segmentos, da distância entre as nervuras que delimitam uma aréola, do quanto as nervuras são interconectadas e das dimensões das aréolas foram obtidas 37 variáveis da imagem, das quais foram extraídas e utilizadas 11 características funcionais escolhidas de acordo com o quanto foram capazes de explicar a variação dos resultados obtidos nas análises de ordenamento (Tabela 3.1).

Tabela 3.1 - Siglas adotadas para cada característica funcional da nervação foliar obtida e suas respectivas descrições.

Sigla adotada	Variável	Unidades	Descrição
VD	densidade das nervuras	mm ⁻¹	Comprimento de nervuras por unidade de área
Vdist	distância entre nervuras	mm	distância entre nervuras (média)
VT	Tortuosidade das nervuras	adimensional	tortuosidade (perímetro do segmento dividido pelo comprimento de um segmento de linha que conecta as extremidades) das nervuras (média)
MST	Razão árvore de abrangência mínima	adimensional	número de segmentos de nervuras na árvore de abrangência mínima conectando todas as junções das nervuras dividido pelo número de segmentos na rede observada ponderado pelo comprimento do segmento.
AE	Elongação das aréolas	adimensional	o maior eixo da aréola dividido pelo eixo menor (média)
AR	Rugosidade das aréolas	mm	perímetro da aréola ao quadrado dividido pela área da aréola (média)
AC	Circularidade das aréolas	mm	4 vezes pi vezes área da aréola dividido pelo perímetro da aréola ao quadrado (média)
AL	Redundância	mm ⁻²	número de aréolas por unidade de área
ALI	Índice de redundância	adimensional	redundância dividida pela densidade de nervuras ao quadrado
MESH	Reticulação	adimensional	número de faces delimitadas da rede, como uma fração do máximo número possível de faces delimitadas de outras redes planas com o mesmo número de vértices
FEV	Razão número de terminações livres	adimensional	fração dos segmentos de nervuras que possuem terminação livre

3.2.4. Parâmetros funcionais de **nervação foliar** analisados

A seguir são apresentados os parâmetros obtidos através do procedimento automático MATLAB indicando a variável, unidade e sua descrição: Densidade das nervuras (VD; mm^{-1}) - Comprimento de nervuras por unidade de área; Distância entre nervuras (Vdist; mm) - distância média entre nervuras; Tortuosidade das nervuras (VT; mm – tortuosidade: média do perímetro do segmento dividido pelo comprimento de um segmento de linha que conecta as extremidades das nervuras; Razão árvore de abrangência mínima (MST; adimensional) - número de segmentos de nervuras na árvore de abrangência mínima conectando todas as junções das nervuras dividido pelo número de segmentos na rede observada ponderado pelo comprimento do segmento; Elongação das aréolas (AE; mm) – media do maior eixo da aréola dividido pelo eixo menor; Rugosidade das aréolas (AR; mm) – média do perímetro da aréola ao quadrado dividido pela área da aréola; Circularidade das aréolas (AC; mm) – razão média entre o produto 4π multiplicado pela área da aréola dividido e o perímetro da aréola ao quadrado; Redundância (AL; mm^{-2}) - número de aréolas por unidade de área; Índice de redundância (ALI; adimensional) - redundância dividida pela densidade de nervuras ao quadrado; Reticulação (MESH; adimensional) - número de faces delimitadas da rede, como uma fração do máximo número possível de faces delimitadas de outras redes planas com o mesmo número de vértices; Razão número de terminações livres (FEV; adimensional) - fração dos segmentos de nervuras que possuem terminação livre (Tabela 3.1)

3.2.5. Análise de dados

As características funcionais das nervuras foliares (22 em um total de 37 variáveis) foram utilizadas para investigar se as famílias biológicas das espécies que compõem 70 % da área basal de todas as parcelas do delineamento experimental explicam melhor as propriedades na nervação do que a perturbação antrópica.

Foi construída uma matriz de correlação (Spearman) para compreender como as

características se associam nos indivíduos das espécies que compõem as parcelas.

Uma análise discriminante linear (LDA) foi realizada com os valores das médias das características funcionais por espécie por comunidade, definindo-se como grupos *a priori* a família biológica.

As médias das características funcionais por espécie e em cada parcela foram calculadas e utilizadas de duas maneiras: 1- multiplicadas pela área basal relativa da parcela com prefixo Agg_AB e multiplicadas pela abundância relativa da parcela com prefixo Agg_abund. As parcelas foram comparadas com a análise de variância multivariada PERMANOVA baseada em distância euclidiana. As parcelas foram agrupadas pelo método LDA. Todas as análises foram realizadas no software GNU R (R Core Development Team 2015). Utilizou-se o conceito de média ponderada da comunidade para interpretar resultados obtidos.

3.3. Resultados

O número de indivíduos coletados e analisados foram 226, acumulando 84 espécies (52 táxons) e 19 famílias (e 1 indeterminada) em todas as parcelas (Tabela 3.2). A família Cytheaceae (Polypodiopsida) e as espécie *Euterpe edulis* (Palmae) e *Tibouchina pulchra* foram retiradas da análise, pois nos dois primeiros casos são espécies não dicotiledôneas que exibiram valores de VD muito diferenciados das arbóreas dicotiledôneas e desse modo, representando valores discrepantes nas comunidades, no segundo, as nervuras estavam obstruídas por tricomas e esclereídes.

Tabela 3.2 - Espécies ocorrentes correspondentes à 70% Área Basal total nas diferentes áreas de estudo e respectivas Área Basal Relativa (ABR); * espécie removida da análise (veja texto)

NSV1			NSV3		
Espécie	família	ABR	Espécie	família	ABR
<i>Aiouea acarodomatifer</i>	Lauraceae	1,657	<i>Abarema langedorffii</i>	Fabaceae	0,812
<i>Alchornea glandulosa</i>	Euphorbiaceae	3,230	<i>Alchornea glandulosa</i>	Euphorbiaceae	4,737
<i>Amaioua intermedia</i>	Rubiaceae	0,917	<i>Amaioua guianensis</i>	Rubiaceae	0,624
<i>Bathysa australis</i>	Rubiaceae	1,951	<i>Calyptanthus lucida</i>	Myrtaceae	0,956
<i>Cabralea canjerana</i> subsp. <i>canjerana</i>	Meliaceae	1,270	<i>Chrysophyllum viride</i>	Sapotaceae	26,384
<i>Calyptanthus lucida</i>	Myrtaceae	1,174	<i>Couepia venosa</i>	Chrysobalanaceae	1,655
<i>Chrysophyllum viride</i>	Sapotaceae	16,862	<i>Coussapoa sp1</i>	Urticaceae	2,180
<i>Couepia venosa</i>	Chrysobalanaceae	2,722	<i>Eugenia sp1</i>	Myrtaceae	0,806
<i>Coussapoa microcarpa</i>	Urticaceae	1,109	<i>Euphorbiaceae sp1*</i>	Euphorbiaceae	0,036
<i>Cryptocarya mandiocana</i>	Lauraceae	1,321	<i>Euterpe edulis*</i>	Palmae	7,393
<i>Cryptocarya saligna</i>	Lauraceae	0,832	<i>Guapira opposita</i>	Nyctaginaceae	2,723
<i>Euterpe edulis*</i>	Palmae	11,611	<i>Inga lanceifolia</i>	Fabaceae	0,716
<i>Guapira opposita</i>	Nyctaginaceae	3,782	<i>Inga sp1</i>	Fabaceae	0,776
<i>Licania hoehnei</i>	Chrysobalanaceae	5,839	<i>Heisteria silvianii*</i>	Oleaceae	1,041
<i>Miconia cabucu</i>	Melastomataceae	1,363	<i>Licania hoehnei</i>	Chrysobalanaceae	4,215
<i>Mollinedia argyrogyna</i>	Monimiaceae	1,260	<i>Licania armeniaca</i>	Lauraceae	0,475
<i>Myrcia spectabilis</i>	Myrtaceae	2,358	<i>Miconia cabucu</i>	Melastomataceae	0,956
<i>Myrtaceae sp.2</i>	Myrtaceae	1,155	<i>Micropholis crassipedicellata</i>	Sapotaceae	0,650
<i>Ocotea catharinensis</i>	Lauraceae	5,375	<i>Mollinedia sp1</i>	Monimiaceae	0,937
<i>Ocotea dispersa</i>	Lauraceae	0,820	<i>Monimiaceae SP 1*</i>	Monimiaceae	0,706
<i>Pouteria caimito</i>	Sapotaceae	1,305	<i>Myrcugenia glaucescen</i>	Myrtaceae	0,587
<i>Rapanea hermogenesii</i>	Primulaceae	0,842	<i>Ocotea aciphylla</i>	Lauraceae	1,013
<i>Schefflera angustissima</i>	Araliaceae	1,776	<i>Ocotea catharinensis</i>	Lauraceae	2,436
NSV4			<i>Ocotea daphnifolia</i>	Lauraceae	0,652
Espécie	família	ABR	<i>Ocotea dispersa</i>	Lauraceae	0,909
<i>Alchornea glandulosa</i>	Euphorbiaceae	1,051	<i>Ocotea divaricata</i>	Lauraceae	1,073
<i>Alchornea triplinervia</i>	Euphorbiaceae	5,639	<i>Ocotea elegans</i>	Lauraceae	0,833
<i>Alsophila setosa*</i>	Cyatheaceae	1,550	<i>Ocotea sp.1*</i>	Lauraceae	1,614
<i>Bathysa australis</i>	Rubiaceae	1,276	<i>Ormosia minor*</i>	Fabaceae	0,091
<i>Cabralea canjerana</i>	Meliaceae	1,381	<i>Persea venosa</i>	Lauraceae	1,346
<i>Calyptanthus lucida</i>	Myrtaceae	2,162	<i>Schefflera angustissima</i>	Araliaceae	0,834
<i>Calyptanthus strigipes</i>	Myrtaceae	1,960	<i>Sloanea sp1*</i>	Elaeocarpaceae	0,590
<i>Campomanesia guaviroba</i>	Myrtaceae	1,275	total		70,755
<i>Chrysophyllum viride</i>	Sapotaceae	3,777	NSV5		
<i>Cordia sellowiana</i>	Boraginaceae	1,058	Espécie	família	ABR
<i>Croton macrobothrys</i>	Euphorbiaceae	0,968	<i>Alchornea triplinervia</i>	Euphorbiaceae	26,810
<i>Cryptocarya saligna</i>	Lauraceae	1,143	<i>Calyptanthus strigipes</i>	Myrtaceae	1,590
<i>Cyathea delgadii*</i>	Cyatheaceae	1,172	<i>Chrysophyllum viride</i>	Sapotaceae	2,420
<i>Euterpe edulis*</i>	Palmae	9,418	<i>Cyatheaceae*</i>	Cyatheaceae	4,380
<i>Indet. sp. 8</i>	N/D	7,392	<i>Euterpe edulis*</i>	Palmae	11,880
<i>Inga lanceifolia</i>	Fabaceae	2,417	<i>Guapira opposita</i>	Nyctaginaceae	1,620
<i>Jacaranda montana</i>	Bignoniaceae	1,795	<i>Inga marginata</i>	Fabaceae	2,280
<i>Licania hoehnei</i>	Chrysobalanaceae	8,663	<i>Licania hoehnei</i>	Chrysobalanaceae	3,470
<i>Licania armeniaca</i>	Lauraceae	1,503	<i>Miconia cabussu</i>	Melastomataceae	2,340
<i>Micropholis gardneriana</i>	Sapotaceae	1,053	<i>Mollinedia argyrogyna</i>	Monimiaceae	1,570
<i>Mollinedia argyrogyna</i>	Monimiaceae	3,357	<i>Piptocarpha macropoda</i>	Asteraceae	3,160
<i>Mollinedia engleriana</i>	Monimiaceae	1,025	<i>Schefflera angustissima</i>	Araliaceae	1,970
<i>Myrcia spectabilis</i>	Myrtaceae	1,041	<i>Sloanea monosperma</i>	Elaeocarpaceae	1,850
<i>Myrtaceae sp. 2</i>	Myrtaceae	1,516	<i>Solanum cinnamomeum</i>	Solanaceae	2,400
<i>Ocotea catharinensis</i>	Lauraceae	3,647	<i>Tibouchina pulchra</i>	Melastomataceae	3,670
<i>Pouteria caimito</i>	Sapotaceae	1,048	total		71,410
<i>Vernonanthura puberula</i>	Asteraceae	1,737			
total		70,024			

As características das nervuras menores se apresentaram mais associadas entre si, o mesmo ocorreu com as características das nervuras maiores. Nervuras maiores e menores se associaram fracamente (Tabela 3.3.). VD variou de 4,79 a 34,02 cm⁻¹, entre as espécies que revelaram ter os maiores valores dessa característica (~ 20 cm⁻¹) destacaram-se *Chrysophyllum viride*, *Inga marginata*, *Couepia venosa*, *Alchornea triplinervia*, *Coussapoa microcarpa* e *Licania hoehnei*. Entre as de menor VD, *Mollinedia engleriana*, *Guapira opposita*, *Micropholis gardneriana*, *Rapanea hermogenesii*, *Micropholis crassipedicellata* (Tabela 3.4).

VD exibiu correlação forte e negativa com Vdist e VT (R= -0,82 e -0,76, Tabela 3.3) e correlação forte e positiva com AL (R = 0,73, Tabela 3.3.), portanto, Vdist, VT, AL devem refletir bem a quantidade de nervura existente em determinada área foliar. MST se correlacionou com FEV e MESH (R = -0,87 e 0,94, Tabela 3.3.), ambas as características indicam o grau de hierarquização das nervuras menores. AE, AR e AC indica a forma das aréolas, a primeira se correlacionou positivamente com a segunda (R = 0,65, Tabela 3.3.) e essas duas se correlacionaram negativamente com a terceira (R = -0,62 e -0,95, respectivamente, Tabela 3.3.). ALI se correlacionou moderadamente com AL (R = 0,51, Tabela 3.3.). MESH se correlacionou negativamente com FEV (R = -0,88, Tabela 3.3.).

MVD apresentou correlação forte apenas com MAL (R = 0,94, Tabela 3.3). MMST exibiu correlação negativa com MMESH (R = -0,73, Tabela 3.3.). MAE se correlacionou com MAR e MAC (R = 0,81 e -0,83, Tabela 3.3.). MMESH e MFEV se correlacionaram moderadamente (R = -0,66, Tabela 3.3.).

Tabela 3.3 - Matriz de correlação entre as características funcionais da nervação foliar. Os números correspondem ao coeficiente de Spearman.

	VD	Vdist	VT	MST	AE	AR	AC	AL	ALI	MESH	FEV	MVD	MVDist	MVT	MMST	MAE	MAR	MAC	MAL	MALI	MMESH	MFEV
VD	1,00	-0,82	-0,76	-0,50	-0,09	0,00	0,09	0,73	0,26	0,24	-0,58	0,12	0,06	-0,05	0,29	0,13	0,09	0,03	0,18	0,16	-0,31	0,36
Vdist	-0,82	1,00	0,68	0,37	0,08	-0,07	-0,01	-0,42	-0,19	-0,15	0,45	-0,06	-0,03	0,06	-0,23	-0,11	-0,07	0,02	-0,10	-0,12	0,20	-0,21
VT	-0,76	0,68	1,00	0,31	0,15	0,01	-0,05	-0,54	-0,19	-0,04	0,38	-0,05	-0,07	0,05	-0,16	-0,08	-0,03	-0,09	-0,12	-0,16	0,21	-0,26
MST	-0,50	0,37	0,31	1,00	0,19	0,36	-0,44	-0,39	-0,49	-0,87	0,94	0,06	0,05	0,10	-0,26	-0,08	-0,06	0,06	0,03	-0,07	0,21	-0,18
AE	-0,09	0,08	0,15	0,19	1,00	0,65	-0,62	0,04	0,21	-0,15	0,20	0,19	-0,05	-0,06	-0,04	0,24	0,22	-0,15	0,13	-0,02	0,00	0,16
AR	0,00	-0,07	0,01	0,36	0,65	1,00	-0,95	-0,15	-0,17	-0,44	0,39	0,13	-0,02	-0,07	-0,15	0,08	0,07	-0,10	0,12	0,04	0,05	-0,02
AC	0,09	-0,01	-0,05	-0,44	-0,62	-0,95	1,00	0,24	0,29	0,48	-0,47	-0,09	-0,01	0,05	0,17	-0,03	-0,04	0,09	-0,09	0,01	-0,07	0,04
AL	0,73	-0,42	-0,54	-0,39	0,04	-0,15	0,24	1,00	0,51	0,22	-0,48	0,06	0,11	-0,03	0,23	0,25	0,18	0,00	0,09	0,11	-0,26	0,44
ALI	0,26	-0,19	-0,19	-0,49	0,21	-0,17	0,29	0,51	1,00	0,41	-0,48	0,03	-0,03	-0,08	0,16	0,19	0,11	-0,11	0,00	0,06	-0,07	0,14
MESH	0,24	-0,15	-0,04	-0,87	-0,15	-0,44	0,48	0,22	0,41	1,00	-0,88	-0,08	-0,09	-0,03	0,22	0,02	0,01	-0,02	-0,07	0,03	-0,14	0,11
FEV	-0,58	0,45	0,38	0,94	0,20	0,39	-0,47	-0,48	-0,48	-0,88	1,00	0,01	0,06	0,08	-0,30	-0,10	-0,08	0,04	-0,03	-0,10	0,22	-0,22
MVD	0,12	-0,06	-0,05	0,06	0,19	0,13	-0,09	0,06	0,03	-0,08	0,01	1,00	-0,33	0,04	-0,15	0,01	-0,05	-0,02	0,94	-0,07	0,16	-0,19
MVDist	0,06	-0,03	-0,07	0,05	-0,05	-0,02	-0,01	0,11	-0,03	-0,09	0,06	-0,33	1,00	0,34	-0,20	0,24	0,46	-0,32	-0,25	-0,08	0,04	0,28
MVT	-0,05	0,06	0,05	0,10	-0,06	-0,07	0,05	-0,03	-0,08	-0,03	0,08	0,04	0,34	1,00	-0,08	-0,17	-0,01	0,05	0,09	-0,15	0,22	-0,02
MMST	0,29	-0,23	-0,16	-0,26	-0,04	-0,15	0,17	0,23	0,16	0,22	-0,30	-0,15	-0,20	-0,08	1,00	-0,17	-0,20	0,30	-0,07	0,15	-0,73	0,55
MAE	0,13	-0,11	-0,08	-0,08	0,24	0,08	-0,03	0,25	0,19	0,02	-0,10	0,01	0,24	-0,17	-0,17	1,00	0,81	-0,83	-0,08	-0,05	0,01	0,20
MAR	0,09	-0,07	-0,03	-0,06	0,22	0,07	-0,04	0,18	0,11	0,01	-0,08	-0,05	0,46	-0,01	-0,20	0,81	1,00	-0,76	-0,06	0,01	0,03	0,36
MAC	0,03	0,02	-0,09	0,06	-0,15	-0,10	0,09	0,00	-0,11	-0,02	0,04	-0,02	-0,32	0,05	0,30	-0,83	-0,76	1,00	0,05	0,17	-0,18	0,01
MAL	0,18	-0,10	-0,12	0,03	0,13	0,12	-0,09	0,09	0,00	-0,07	-0,03	0,94	-0,25	0,09	-0,07	-0,08	-0,06	0,05	1,00	0,07	0,08	-0,08
MALI	0,16	-0,12	-0,16	-0,07	-0,02	0,04	0,01	0,11	0,06	0,03	-0,10	-0,07	-0,08	-0,15	0,15	-0,05	0,01	0,17	0,07	1,00	-0,26	0,26
MMESH	-0,31	0,20	0,21	0,21	0,00	0,05	-0,07	-0,26	-0,07	-0,14	0,22	0,16	0,04	0,22	-0,73	0,01	0,03	-0,18	0,08	-0,26	1,00	-0,66
MFEV	0,36	-0,21	-0,26	-0,18	0,16	-0,02	0,04	0,44	0,14	0,11	-0,22	-0,19	0,28	-0,02	0,55	0,20	0,36	0,01	-0,08	0,26	-0,66	1,00

Tabela 3.4 - Parâmetros de venação foliar avaliados nas diferentes espécies e áreas de estudo: Densidade das nervuras (VD; mm^{-1}) - Comprimento de nervuras por unidade de área; Distância entre nervuras (Vdist; mm) - distância média entre nervuras; Tortuosidade das nervuras (VT; mm – tortuosidade: média do perímetro do segmento dividido pelo comprimento de um segmento de linha que conecta as extremidades das nervuras; Razão árvore de abrangência mínima (MST; adimensional) - número de segmentos de nervuras na árvore de abrangência mínima conectando todas as junções das nervuras dividido pelo número de segmentos na rede observada ponderado pelo comprimento do segmento; Elongação das aréolas (AE; mm) – média do maior eixo da aréola dividido pelo eixo menor; Rugosidade das aréolas (AR; mm) – média do perímetro da aréola ao quadrado dividido pela área da aréola; Circularidade das aréolas (AC; mm) – razão média entre o produto $4p$ multiplicado pela área da aréola dividido e o perímetro da aréola ao quadrado; Redundância (AL; mm^{-2}) - número de aréolas por unidade de área; Índice de redundância (ALI; adimensional) - redundância dividida pela densidade de nervuras ao quadrado; Reticulação (MESH; adimensional) - número de faces delimitadas da rede, como uma fração do máximo número possível de faces delimitadas de outras redes planas com o mesmo número de vértices; Razão número de terminações livres (VN ou FEV; adimensional) - fração dos segmentos de nervuras que possuem terminação livre.

Espécies	Família	Código da parcela	VD	Vdist
----------	---------	-------------------	----	-------

		Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
<i>Aiouea acarodomatifera</i>	Lauraceae	10,45	0,82	0,14	0,01
<i>Alchornea glandulosa</i>	Euphorbiaceae	16,94	2,79	0,08	0,02
<i>Amaioua intermedia</i>	Rubiaceae	18,73	2,41	0,07	0,02
<i>Bathysa australis</i>	Rubiaceae	15,54	1,28	0,09	0,01
<i>Cabranea canjerana</i>	Meliaceae	15,40	4,68	0,08	0,02
<i>Calyptranthes lucida</i>	Myrtaceae	11,82	2,96	0,12	0,03
<i>Chrysophyllum viride</i>	Sapotaceae	19,87	4,00	0,06	0,03
<i>Couepia venosa</i>	Chrysobalanaceae	23,25	3,58	0,06	0,01
<i>Coussapoa microcarpa</i>	Urticaceae	20,57	2,72	0,07	0,01
<i>CCryptocarya mandioccana</i>	Lauraceae	16,36	1,89	0,11	0,01
<i>Cryptocarya saligna</i>	Lauraceae	13,39	3,55	0,11	0,03
<i>Guapira opposita</i>	Nyctaginaceae	8,04	0,73	0,18	0,03
<i>Licania hoehnei</i>	Chrysobalanaceae	20,70	1,58	0,06	0,01
<i>Miconia cabucu</i>	Melastomataceae	13,67	4,09	0,11	0,06
<i>Mollinedia argyrogyna</i>	Monimiaceae	11,84	1,47	0,11	0,01
<i>Myrcia spectabilis</i>	Myrtaceae	13,90	1,33	0,10	0,01
<i>Myrtaceae sp. 2</i>	Myrtaceae	19,55	2,01	0,06	0,01
<i>Ocotea catharinensis</i>	Lauraceae	13,43	2,70	0,11	0,03
<i>Ocotea dispersa</i>	Lauraceae	12,48	1,52	0,11	0,01
<i>Pouteria caimito</i>	Sapotaceae	17,61	5,31	0,09	0,03
<i>Rapanea hermogenesii</i>	Primulaceae	7,27	0,49	0,22	0,01
<i>Schefflera angustissima</i>	Araliaceae	13,56	2,06	0,10	0,02

NSV-01

Cont.

Espécies	Família	Código da parcela	VD	Vdist
			Média	Desvio padrão
			Média	Desvio padrão

<i>Abarema langsdorffii</i>	Fabaceae		19,05	6,16	0,08	0,05
<i>Alchornea glandulosa</i>	Euphorbiaceae		19,01	5,17	0,11	0,09
<i>Amaioua guianensis</i>	Rubiaceae		18,50	1,31	0,07	0,01
<i>Calyptranthes lucida</i>	Myrtaceae		15,49	1,54	0,08	0,01
<i>Chrysophyllum viride</i>	Sapotaceae		14,87	4,94	0,09	0,03
<i>Couepia venosa</i>	Chrysobalanaceae		19,00	7,41	0,09	0,06
<i>Coussapoa sp. 1</i>	Urticaceae		18,53	2,04	0,08	0,01
<i>Eugenia sp. 1</i>	Myrtaceae		14,48	2,30	0,11	0,01
<i>Guapira opposita</i>	Nyctaginaceae		8,55	0,42	0,16	0,03
<i>Inga lanceifolia</i>	Fabaceae		16,53	3,17	0,07	0,02
<i>Inga sp. 1</i>	Fabaceae		18,80	2,31	0,07	0,01
<i>Licania hoehnei</i>	Chrysobalanaceae		20,05	0,92	0,06	0,00
<i>Licaria armeniaca</i>	Lauraceae	NSV-03	12,76	2,05	0,11	0,01
<i>Miconia cabucu</i>	Melastomataceae		16,84	5,68	0,09	0,05
<i>Micropholis crassipedicellata</i>	Sapotaceae		4,79	NA	0,29	NA
<i>Mollinedia sp. 1</i>	Monimiaceae		11,51	4,44	0,13	0,05
<i>Myrceugenia glaucescens</i>	Myrtaceae		12,51	5,52	0,12	0,05
<i>Ocotea aciphylla</i>	Lauraceae		16,62	2,39	0,10	0,01
<i>Ocotea catharinensis</i>	Lauraceae		14,93	4,55	0,12	0,05
<i>Ocotea daphnifolia</i>	Lauraceae		14,13	1,70	0,10	0,03
<i>Ocotea dispersa</i>	Lauraceae		19,41	2,09	0,10	0,03
<i>Ocotea divaricata</i>	Lauraceae		14,43	1,74	0,09	0,02
<i>Ocotea elegans</i>	Lauraceae		13,48	1,09	0,09	0,01
<i>Persea venosa</i>	Lauraceae		15,70	NA	0,10	NA
<i>Schefflera angustissima</i>	Araliaceae		15,15	4,17	0,09	0,03

Cont.

Espécies	Família	Código da parcela	VD	Vdist
			Média	
			Desvio padrão	Média
				Desvio padrão

<i>Alchornea glandulosa</i>	Euphorbiaceae		19,10	2,36	0,07	0,01
<i>Alchornea triplinervia</i>	Euphorbiaceae		19,23	0,72	0,07	0,00
<i>Bathysa australis</i>	Rubiaceae		16,42	1,02	0,08	0,01
<i>Cabralea canjerana</i>	Meliaceae		12,83	0,77	0,10	0,00
<i>Calyptranthes lucida</i>	Myrtaceae		14,34	2,07	0,09	0,02
<i>Calyptranthes strigipes</i>	Myrtaceae		12,90	0,34	0,10	0,01
<i>Campomanesia guaviroba</i>	Myrtaceae		15,49	0,85	0,09	0,01
<i>Chrysophyllum viride</i>	Sapotaceae		13,00	1,80	0,10	0,02
<i>Cordia sellowiana</i>	Boraginaceae		18,98	0,98	0,07	0,00
<i>Croton macrobothrys</i>	Euphorbiaceae		16,72	2,59	0,09	0,03
<i>Cryptocarya saligna</i>	Lauraceae		12,39	1,14	0,12	0,02
<i>Indeterminada sp. 8</i>	Indeterminada	NSV-04	15,30	2,04	0,08	0,01
<i>Inga lanceifolia</i>	Fabaceae		15,63	0,62	0,07	0,02
<i>Jacaranda montana</i>	Bignoniaceae		18,71	0,37	0,07	0,01
<i>Licania hoehnei</i>	Chrysobalanaceae		19,78	3,16	0,07	0,01
<i>Licaria armeniaca</i>	Lauraceae		15,11	4,98	0,10	0,04
<i>Micropholis gardneriana</i>	Sapotaceae		8,21	0,81	0,15	0,02
<i>Mollinedia argyrogyna</i>	Monimiaceae		12,97	0,81	0,10	0,01
<i>Mollinedia engleriana</i>	Monimiaceae		10,34	3,70	0,16	0,05
<i>Myrcia spectabilis</i>	Myrtaceae		15,58	0,69	0,09	0,00
<i>Myrtaceae sp. 2</i>	Myrtaceae		17,92	4,09	0,08	0,03
<i>Ocotea catharinensis</i>	Lauraceae		14,49	3,73	0,10	0,03
<i>Pouteria caimito</i>	Sapotaceae		14,76	2,84	0,10	0,02
<i>Vernonanthura puberula</i>	Asteraceae		14,79	2,80	0,09	0,01

Cont.

Espécies	Família	Código da parcela	VD		Vdist	
			Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão

<i>Alchornea triplinervia</i>	Euphorbiaceae		22,70	3,07	0,05	0,01
<i>Calyptanthus strigipes</i>	Myrtaceae		14,49	0,42	0,09	0,01
<i>Chrysophyllum viride</i>	Sapotaceae		34,02	10,35	0,03	0,01
<i>Guapira opposita</i>	Nyctaginaceae		11,79	6,28	0,13	0,05
<i>Inga marginata</i>	Fabaceae		24,25	1,29	0,05	0,00
<i>Licania hoehnei</i>	Chrysobalanaceae		19,18	0,71	0,07	0,00
<i>Miconia cabucu</i>	Melastomataceae	NSV-05	14,24	1,41	0,10	0,01
<i>Mollinedia argyrogyna</i>	Monimiaceae		14,19	2,29	0,10	0,03
<i>Piptocarpha macropoda</i>	Asteraceae		17,38	3,47	0,08	0,01
<i>Schefflera angustissima</i>	Araliaceae		11,61	0,58	0,12	0,01
<i>Sloanea monosperma</i>	Elaeocarpaceae		18,04	2,69	0,07	0,01
<i>Solanum cinnamomeum</i>	Solanaceae		19,28	4,69	0,07	0,01
<i>Tibouchina pulchra</i>	Melastomataceae		17,48	3,00	0,09	0,01

Os eixos 1 e 2 da LDA explicaram em torno de 20 % da variação dos dados cada (Fig. 3.2). O primeiro é mais influenciado pelas características MESH (ver exemplo na Fig. 3.3 C e D) e MVT, tendo as famílias Elaeocarpaceae e Melastomataceae representando os menores e maiores valores dessas características respectivamente. O segundo é associado, principalmente, a AC (ver exemplo na Fig. 3.3 C e D). Elaeocarpaceae apresentando os menores valores e Primulaceae, os maiores. Portanto, quanto maior AC, maior será a circularidade Elaeocarpaceae e Melastomataceae apresentam baixos valores de AC (Tabela 3.3).

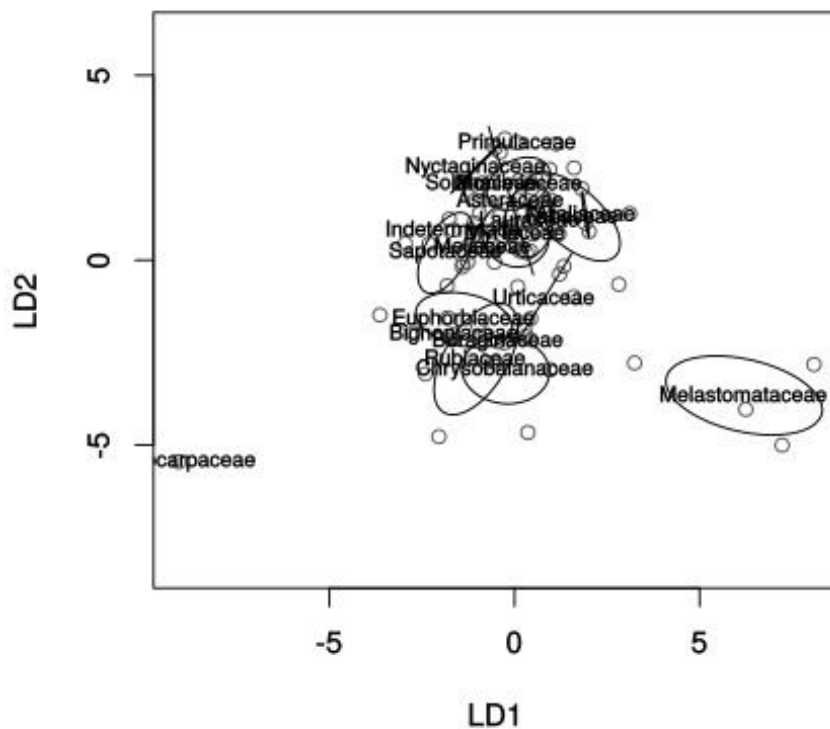


Figura 3.2 - Biplot com a análise discriminante linear das características funcionais das nervuras foliares em função das famílias biológicas das espécies.

Ao analisar as comunidades com diferentes níveis de perturbação, a diferença entre os parâmetros ponderados pela área basal e pela abundância em cada parcela não foi significativa (PERMANOVA, $p = 0,11$ e $0,05$ respectivamente), os valores das parcelas de florestas mais avançadas (NSV-01 e NSV-03) agregados pela área basal ou abundância se agruparam próximos. As florestas mais secundarizadas apresentaram os escores do eixo 2 mais baixos com NSV-04 exibindo escores do eixo 1 mais altos do que NSV-05 (Fig. 3.5). As características das nervuras maiores explicaram pouco a variabilidade dos dados em geral.

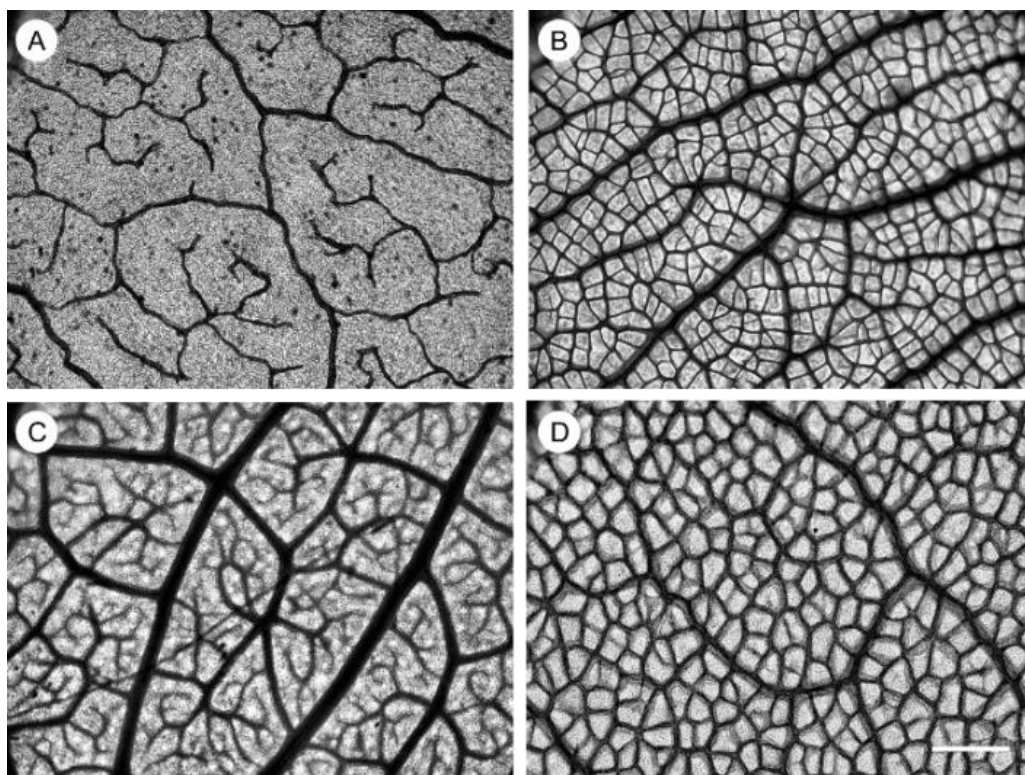


Figura 3.3 - Espécies que exibiram valores extremos das características funcionais das nervuras menores. A (*Guapira opposita*, elevados valores de MST, FEV, Vdist) em oposição a B (*Couepia venosa*, elevados valores de densidade de nervura e número de aréolas por área), C (*Eugenia sp. 1*, elevado valor de rugosidade de areola) em oposição a D (*Coussapoa microcarpa*, elevados valores de circularidade de aréola e reticulação). Escala = 500um.

Levando-se em consideração os valores agregados pela área basal, os dois primeiros eixos da LDA foram capazes de explicar aproximadamente 80 % da variação dos dados com destaque para as características funcionais das nervuram menores. O eixo 1 explicou mais de 50 %, Agg_AB_AC, Agg_AB_VT, Agg_AB_MST e Agg_AB_FEV foram as características mais importantes. NSV-05 apresentou, no geral, maiores valores de Agg_AB_AC e Agg_AB_FEV. As demais parcelas exibiram maior Agg_AB_MST e Agg_AB_VT. As características que contribuíram mais para a composição do eixo 2 foram Agg_AB_MESH,

Agg_AB_FEV e Agg_AB_Vdist (> 60 %), NSV-01 e 03 exibiram uma nervação com maior Vdist, NSV-04 e 05, Agg_AB_MESH e Agg_AB_FEV.

As características funcionais das nervuras também foram ponderadas pela abundância. Os dois primeiros eixos da LDA explicaram mais de 75 % da variação dos dados. O eixo 1 explicou 44 % e o eixo 2, 34 %. As características que contribuíram mais para a composição do eixo 1 foram Agg_abund_FEV, Agg_abund_ALI, Agg_abund_MST e Agg_abund_VT. NSV-01 e 05 apresentaram maior Agg_abund_FEV e Agg_abund_ALI. NSV-03 e 04, maior Agg_abund_MST e Agg_abund_VT. As características que contribuíram mais para a composição do eixo 2 foram Agg_abund_MESH, Agg_abund_FEV e Agg_abund_Vdist. NSV-01 e 03 com elevada Agg_abund_Vdist e NSV-04 e 05, elevada Agg_abund_MESH e Agg_abund_FEV.

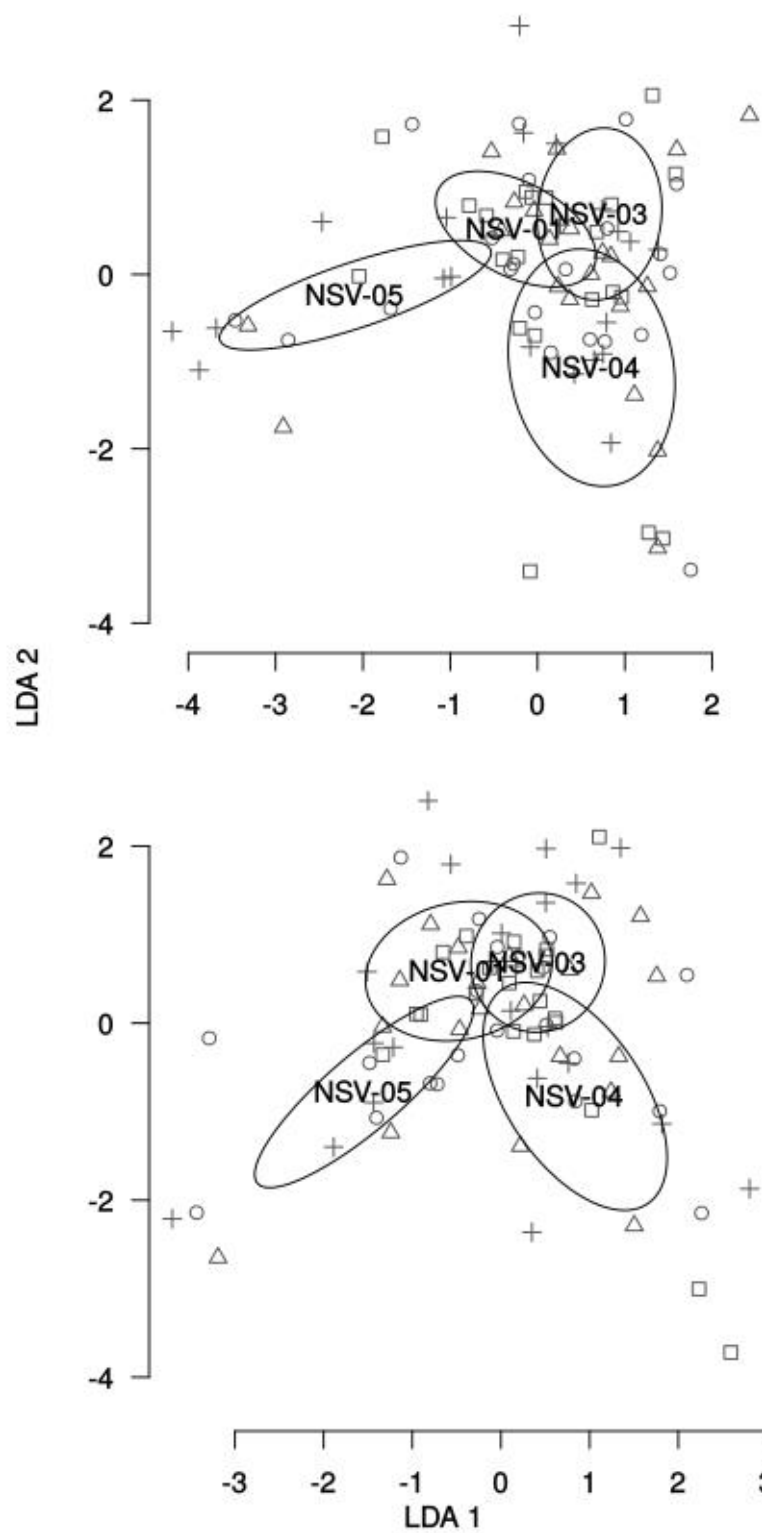


Figura 3.5 - Biplots construídos com os valores ponderados pela contribuição da espécie

dentro de cada parcela. (A) Baseada em área basal; (B) Baseado em abundância. Quadrado representa NSV-01; círculo, NSV-03; triângulo, NSV-04; cruz, NSV-05.

3.4. Discussão

A análise utilizando as famílias como resposta não indicou um padrão claro de organização dos táxons de acordo com suas características. Melastomataceae e Elaeocarpaceae revelaram-se como extremos, a primeira com um sistema de nervuras mais reticulado e a segunda com um sistema de nervuras mais hierarquizado. Além disso, as condições das diferentes áreas de floresta parecem ter filtrado as famílias que possuem níveis intermediários de reticulação no geral.

Os resultados deste trabalho ponderados pela área basal e ponderados pela abundância mostraram que as parcelas menos perturbadas (NSV 1 e 3), possuem uma maior V.dist, enquanto as parcelas mais perturbadas seja por corte seletivo (NSV4), seja por corte raso (NSV5), possuem maior MESH e FEV. A V.dist apresenta correlação inversa e intensa com VD. A densidade de nervuras influencia diretamente a condutividade de água na folha, uma maior condutividade de água pode resultar em maiores taxas fotossintéticas sob saturação luminosa (Brodrribb et al. 2017; Sack & Scoffoni, 2013). Atualmente sabe-se que menores taxas fotossintéticas estão associadas a espécies que investem mais biomassa em folhas, que, por sua vez, possuem baixa longevidade (Osnas et al. 2013) Essas plantas geralmente são de crescimento lento (Reich, 2014) se assemelhando às espécies mais tardias no processo de sucessão secundária (Chadzon et al. 2010).

As parcelas mais perturbadas associaram positivamente duas características funcionais que se correlacionam negativamente dentro de um indivíduo ou espécie: FEV e MESH. Isso indica que essas comunidades possuem espécies dominantes que adotaram estratégias hídricas foliares distintas, provavelmente devido a condições ambientais mais heterogêneas. FEV exibiu uma correlação negativa com VD ($R = -0,58$, Tabela 3.3) indicando espécies com menores taxas

de trocas gasosas. MESH se associou positivamente com VD.

Nervuras altamente reticuladas conferem uma maior redundância nas vias de fluxo de água, isso significa que o líquido possui mais alternativas para ser transportado (Price & Weitz 2014), o que pode promover um desempenho ótimo em casos de flutuação do fluxo de água ou obstrução das nervuras (Sack & Scoffoni 2013).

Um trabalho investigou como a condutância da do ramo, da nervura central e da folha da arbórea *Prunus laurocerasus* se altera em um estresse hídrico e verificaram que sob um potencial hídrico de -1,5 Mpa a condutância hidráulica nos ramos e nervuras centrais declinavam drasticamente, enquanto nas folhas a redução era pouco pronunciada (Nardini et al. 2001). As nervuras centrais também foram cortadas do ápice para a base e tiveram a condutância aferida e os dados ajustados a um modelo hidráulico indicando que a redundância oferece alternativas no caso de embolia, tornando as folhas mais resistentes às mudanças de condutância da nervura central (Nardini et al. 2001).

Outro estudo realizado com 8 espécies entre arbóreas e arbustivas com nervação pinada ou palmada testou a redundância das nervuras de 1ª e 2ª ordem utilizando a VD como característica funcional de redundância. Os pesquisadores causaram a ruptura das nervuras de 1ª ordem e observaram que as folhas palmadas apresentavam as menores quedas em condutividade foliar, transpiração e condutância estomática se comparadas às folhas pinadas. Enquanto danos em nervuras de ordens maiores pouco alteravam esses parâmetros. Os autores propuseram que a redundância no trajeto da água seria uma importante adaptação à danos às nervuras causados pela herbivoria e à efeitos do déficit hídrico como a cavitação (Sack et al. 2008). Isso, sugere que fragmentos mais perturbados possuem dois tipos dominantes: espécies com baixa VD, elevado número de nervuras com terminações livres e espécies com alta VD e alta reticulação.

Essas diferenças nas propriedades da nervação das comunidades de cada parcela podem

estar relacionadas às diferentes condições devido ao histórico de uso da terra. NSV-01 e NSV-03 são áreas mais conservadas, NSV-04 sofreu corte seletivo para extração de madeira e NSV-05 sofreu corte raso e passa por um processo de relativamente recente de sucessão secundária.

Um trabalho recente realizado nas mesmas parcelas de floresta e em alguns fragmentos registrou a medida da radiação fotossinteticamente ativa (PAR) do topo do dossel até o solo formando uma curva que reflete a variação vertical da incidência de luz. As parcelas de floresta avançada apresentaram um declínio pronunciado próximo às copas das árvores, enquanto na parcela secundarizada este declínio ocorreu em menores alturas e na parcela perturbada houve maior incidência média de luz abaixo do dossel e maior heterogeneidade nas curvas de luminosidade (Fauset et al. 2017).

A radiação luminosa de maior intensidade pode resultar em um aumento da temperatura atmosférica e redução da umidade relativa do ar acarretando um aumento do déficit de pressão de vapor (VPD) entre as folhas e a atmosfera, fechamento estomático e queda na produtividade primária (Goulden et al. 2004; Sulman et al. 2016).

Folhas com nervuras densas e reticuladas podem suprir essa necessidade hídrica e equalizar a distribuição de água nos tecidos em toda extensão da lâmina foliar. Altos valores de VD significam maior número de vias para o fluxo de água e a nervação reticulada oferece maiores interconexão tornando as vias mais redundantes (Sack & Scoffoni 2013; Price & Weitz 2014).

Os resultados apresentados neste trabalho e os de (Fauset et al. 2017) sugerem que as nervuras foliares podem ter um papel importante para modelar condições ambientais. Recentemente, trabalhos tiveram como foco a relação entre características funcionais e meio ambiente. (Blonder & Enquist 2014) propuseram um modelo para elucidar condições ambientais a partir de características funcionais. Posteriormente, uma versão simplificada desse modelo foi testada utilizando-se as características das nervuras, distância entre nervuras, raio

da nervura e distância nervura-estômato de mais de 130 espécies em 10 parcelas em um gradiente de altitude. Verificou-se que as características das nervuras foliares se correlacionam bem com a temperatura média anual e com a evapotranspiração potencial, embora o modelo ainda precise de ajustes (Blonder et al. 2017).

Por sua vez, Blonder et al., (2018) investigaram outras funções das nervuras foliares das espécies e do gradiente ambiental supracitado e observou que a relação inversa entre reticulação e hierarquia das nervuras explica melhor a variação nos dados. Neste caso, a reticulação revelou-se associada a maiores níveis de compostos secundários e resistência mecânica da folha, indicando que essa propriedade da nervação possui uma função de defesa contra a herbivoria, além da condução hidráulica (Blonder et al. 2018).

3.5. Conclusão

Os resultados apresentados indicam que a geometria das nervuras e não a densidade de nervuras representa a principal propriedade anatômica foliar capaz de distinguir as comunidades arbóreas estudadas. Comunidades mais avançadas foram caracterizadas, principalmente por uma reduzida V_{dist} o que pode resultar em baixas taxas de trocas gasosas, enquanto florestas perturbadas apresentaram dois tipos funcionais: um com maior FEV, possivelmente com menor potencial para o suprimento de água para os tecidos, outro com maior MESH conferindo maior equalização na distribuição de água pela lâmina foliar e resistência a danos.

Referências Bibliográficas

- Arroyo-Rodríguez, V.; Cavender-Bares, J.; Escobar, F.; Melo, F.P.L.; Tabarelli, M.; Santos, B.A. 2012. Maintenance of tree phylogenetic diversity in a highly fragmented rain forest. *J Ecol* 100:702–711. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2011.01952.x>
- Blonder, B.; Enquist, B.J. 2014. Inferring climate from angiosperm leaf venation networks.

New Phytol 204:116–126. <https://doi.org/10.1111/nph.12780>

Blonder, B.; Salinas, N.; Bentley, L.P.; Shekin, A.; Orlando, P.; Porroa, P.O.C. 2018.

Structural and defensive roles of angiosperm leaf venation network reticulation across an Andes-Amazon elevation gradient. *J Ecol.* <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12945>

Blonder, B.; Salinas, N.; Bentley, L.P.; Shekin, A.; Porroa, P.O.C.; Tejeira, Y.V.; Violle, C.;

Fyllas, N.M.; Goldsmith, G.R.; Martin, R.E.; Asner, G.P.; Díaz, S.; Enquist, B.J.;

Malhi, Y. 2017. Predicting trait-environment relationships for venation networks along an Andes-Amazon elevation gradient. *Ecology* 98:1239–1255.

<https://doi.org/10.1002/ecy.1747>

Chazdon, R.L. 2008. Beyond deforestation: Restoring forests and ecosystem services on degraded lands. *Science* (80-) 320:1458–1460.

<https://doi.org/10.1126/science.1155365>

Farah, F.T.; Rodrigues, R.R.; Santos, F.A.M.; Tamashiro, J.Y.; Shepherd, G.J.; Siqueira, T.;

Batista, J.L.F.; Manly, B.J.F. 2014. Forest destructuring as revealed by the temporal dynamics of fundamental species - Case study of Santa Genebra Forest in Brazil. *Ecol Indic* 37:40–44. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2013.09.011>

Fauset, S.; Freitas, H.C.; Galbraith, D.R.; Sullivan, M.J.P.; Aidar, M.P.M.; Joly, C.A.; Phillips,

O.L.; Vieira, S. A.; Gloor, M.U. 2018. Differences in leaf thermoregulation and water use strategies between three co-occurring Atlantic forest tree species. *Plant Cell*

Environ 41:1618–1631. <https://doi.org/10.1111/pce.13208>

Fauset, S.; Gloor, M.U.; Aidar, M.P.M.; Freitas, H.C.; Fyllas, N.M.; Marabesi, M.A.;

Rochelle, A.L.C.; Shekin, A.; Vieira, S. A.; Joly, C.A. 2017. Tropical forest light regimes in a human-modified landscape. *Ecosphere* 8:.

<https://doi.org/10.1002/ecs2.2002>

- Fonseca, C.R.; Ganade, G.; Baldissera, R.; Becker, C.G.; Boelter, C.R.; Brescovit, A.D.; Campos, L.M.; Fleck, T.; Fonseca, V.S.; Hartz, S.M.; Joner, F; Kaffer, M.I.; Leal-Zanchet, A.M.; Marcelli, M.P.; Mesquita, A.S.; Mondin, C.A.; Paz, C.P.; Petry, M.V.; Piovensan, F.N.; Putzke, J.; Stranz, A.; Vergara, M.; Vieira, E.M. 2009. Towards an ecologically-sustainable forestry in the Atlantic Forest. *Biol Conserv* 142:1209–1219. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.017>
- Goulden, M.L.; Miller, S.D.; Da Rocha, H.R.; Menton, M.C.; De Freitas, H.C.; Figueira, A.M.S.; De Sousa, C.A. 2004. Diel and seasonal patterns of tropical forest CO₂ exchange. *Ecol Appl* 14:42–54. <https://doi.org/10.1890/02-6008>
- Grubb, P.J. 1998. A reassessment of the strategies of plants which cope with shortages of resources. *Perspect Plant Ecol Evol Syst* 1:3–31. <https://doi.org/10.1078/1433-8319-00049>
- Joly, C. A.; Metzger, J.P.; Tabarelli, M. 2014. Tansley review Experiences from the Brazilian Atlantic Forest: ecological findings and conservation initiatives. *New Phytol* 204:459–473. <https://doi.org/10.1111/nph.12989>
- Kull, U.; Herbig, A. 1994. Leaf venation patterns and principles of evolution. In: Hilliges M (ed) *Evolution of natural structures*. Universitatsbibliothek der Universitat Stuttgart, Stuttgart, pp 167–175
- Maximov, N.A. 1931. The physiological significance of the xeromorphic structure of plants. *J Ecol* 19:273–282
- Melo, F.P.L.; Pinto, S.R.R.; Brancalion, P.H.S.; et al. 2013. Priority setting for scaling-up tropical forest restoration projects: Early lessons from the Atlantic forest restoration pact. *Environ Sci Policy* 33:395–404. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2013.07.013>

- Metzger, J.P.; Martensen, A.C.; Dixo, M.; et al. 2009. Time-lag in biological responses to landscape changes in a highly dynamic Atlantic forest region. *Biol Conserv* 142:1166–1177. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.01.033>
- Nardini, A.; Tyree, M.T.; Salleo, S. 2001. Xylem cavitation in the leaf of *Prunus laurocerasus* and its impact on leaf hydraulics. *Plant Physiol* 125:1700–1709. <https://doi.org/10.1104/pp.125.4.1700>
- Oliveira, M.A.; Santos, M.M.; Tabarelli, M. 2008. Profound impoverishment of the large-tree stand in a hyper-fragmented landscape of the Atlantic forest. *For Ecol Manage* 256:1910–1917. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.07.014>
- Price, C.A.; Weitz, J.S. 2014. Costs and benefits of reticulate leaf venation. *BMC Plant Biol* 14:234. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0234-2>
- R Core Development Team. 2015. R: a language and environment for statistical computing, 3.2.1. Doc. Free. available internet <http://www.r-project.org>
- Ribeiro, M.C.; Metzger, J.P.; Martensen, A.C.; et al. 2009. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biol Conserv* 142:1141–1153. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.021>
- Robert, M.; María, U. 2016. Do community-weighted mean functional traits reflect optimal strategies? *Proc R Soc B Biol Sci* 283:20152434. <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.2434>
- Roth-Nebelsick, A.; Uhl, D.; Mosbrugger, V., Kerp, H. 2001. Evolution and Function of Leaf Venation Architecture: A Review. *Ann Bot* 87:553–566. <https://doi.org/10.1006/anbo.2001.1391>
- Sack, L.; Dietrich, E.M.; Streeter, C.M.; et al. 2008. Leaf palmate venation and vascular

- redundancy confer tolerance of hydraulic disruption. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:1567–1572. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709333105>
- Sack, L.; Frole, K. 2006. Leaf structural diversity is related to hydraulic capacity in tropical rain forest trees. *Ecology* 87:483–491. <https://doi.org/10.1890/05-0710>
- Sack, L.; Scoffoni, C. 2013. Tansley review Leaf venation : structure , function , development , evolution , ecology and applications in the past, present and future. *New Phytol* 198:983–1000. <https://doi.org/10.1111/nph.12253>
- Santos, B.A.; Arroyo-Rodríguez, V.; Moreno, C.E.; Tabarelli, M. 2010. Edge-related loss of tree phylogenetic diversity in the severely fragmented brazilian atlantic forest. *PLoS One* 5:1–7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0012625>
- Scoffoni, C.; Rawls, M.; McKown, A.; et al. 2011. Decline of leaf hydraulic conductance with dehydration: relationship to leaf size and venation architecture. *Plant Physiol* 156:832–43. <https://doi.org/10.1104/pp.111.173856>
- Da Silva, J.M.C.; Tabarelli, M.; da Silva, J.M.C; et al. 2000. Tree species impoverishment and the future flora of the Atlantic forest of northeast Brazil. *Nature* 404:72–74. <https://doi.org/10.1038/35003563>
- Sulman, B.N.; Roman, D.T.; Yi, K.; et al. 2016. High atmospheric demand for water can limit forest carbon uptake and transpiration as severely as dry soil. *Geophys Res Lett* 43:9686–9695. <https://doi.org/10.1002/2016GL069416>
- Tabarelli, M.; Pinto, L.P.; Silva, J.M.C.; et al. 2005. Challenges and opportunities for Biodiversity conservation in the Brazilian Atlantic forest. *Conserv Biol* 19:695–700. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2005.00694.x>
- Torres, H.; Alves, H.; De Oliveira, M.A. 2007. Sao Paulo peri-urban dynamics: some social causes and environmental consequences. *Environ Urban* 19:207–223.

<https://doi.org/10.1177/0956247807076784>

Zwieniecki, M.A.; Boyce, C.K.; Holbrook, N.M. 2004. Hydraulic limitations imposed by crown placement determine final size and shape of *Quercus rubra* L. leaves. *Plant, Cell Environ* 27:357–365. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2003.01153.x>

Capítulo 4 – A relação entre nervação foliar e a economia das espécies arbóreas da Mata Atlântica

4.1. Introdução

A nervação foliar influencia a condutividade de água na folha (K_{folha}) e esta depende da condutividade do xilema (K_x) e do mesofilo (K_{ox}) (Cochard et al. 2004). Condutividade é a razão entre a taxa de fluxo da água pelo órgão ou estrutura e o potencial hídrico que impulsiona o movimento do líquido (Blackman and Brodribb 2011). A K_{folha} por sua vez, determina o quanto uma folha pode manter seus estômatos abertos sem desidratar, tendo papel fundamental na condutância estomática (g_s) (Sack and Frole 2006). Vários estudos indicam que quanto maior a VD, maior a K_{folha} , a densidade e a condutância estomática (Sack and Frole 2006; Feild et al. 2009; Brodribb and Feild 2010; Walls 2011).

A nervação tem sido apresentada como uma das estruturas responsáveis pela assimilação máxima (A_{sat}) de CO_2 pela folha devido ao acoplamento entre a fotossíntese e as relações hídricas das plantas (Brodribb et al. 2007). A VD é positivamente correlacionada com o A_{sat} o que sugere que o surgimento de folhas com nervuras bastante ramificadas em Angiospermas tenha sido uma vantagem evolutiva durante o Cretáceo, quando a concentração de CO_2 atmosférica estava em declínio. Naquelas condições, é possível que a fotossíntese tenha se tornado bastante limitada pelo substrato e foi necessário um maior número de estômatos nas folhas para suprir essa deficiência. O aumento dos estômatos demandou uma maior eficiência hídrica, possível com o aumento da VD (Boyce et al. 2009; Brodribb and Feild 2010; Boyce and Zwieniecki 2012; De Boer et al. 2012; Sack et al. 2013; Zwieniecki and Boyce 2014).

Por esses motivos, as características funcionais da nervação têm sido consideradas como aspectos funcionais fundamentais no funcionamento da planta (Pérez-Harguindeguy et al. 2013a); variáveis que refletem a história evolutiva e modulam o desempenho das plantas (Reich

et al. 2003; Westoby and Wright 2006; Reich 2014), impactando o crescimento, a reprodução e a sobrevivência (Violle et al. 2007). Essas características são usadas para avaliar a ligação entre a biodiversidade e o funcionamento do ecossistema e por isso, até prever consequências de impactos antropogênicos. As características funcionais podem ser consideradas através de uma perspectiva econômica no uso de recursos (Wright et al. 2004; Reich 2014). Em nível de indivíduo, parece haver um direcionamento evolutivo causado por limitações de recursos, que privilegiam algumas dessas características em detrimento de outras e vice-versa (*trade-off*). Por exemplo, indivíduos com baixo investimento reprodutivo costumam ter maior longevidade.

Além disso, diversos trabalhos têm registrado repetidamente um eixo unificado de variações nas características foliares, o espectro de economia foliar (EEF), que inclui características como a taxa fotossintética em saturação luminosa (*Asat*), a taxa de respiração no escuro, a longevidade foliar e a concentração de nitrogênio normalizados pela massa ou área da lâmina foliar e capazes de indicar se uma planta consome rapidamente seus recursos e possui baixa longevidade, ou se poupa recursos e possui alta longevidade (Wright et al. 2004; Westoby et al. 2013).

A forte correlação entre a VD, a *Kleaf* e a *Asat* têm gerado a discussão sobre o quanto a nervação estaria influenciando a economia de carbono e água, ou até que ponto relações hídricas determinariam o desempenho metabólico de carbono em uma planta. É possível que a nervação seja uma adaptação fundamental do chamado espectro de economia foliar (EEF) (Blonder et al. 2011, 2013, 2014).

Dentre todas as características do EEF, a massa foliar específica (LMA) parece ser central, pois é uma razão que melhor reflete a variação na taxa relativa de crescimento de uma planta (Poorter & van der Werf 1998; Wright et al. 2004). Uma generalização é que as espécies de folhas com crescimento rápido tendem a ter LMA mais baixas, altas taxas de fotossíntese saturada de luz por massa, altos teores de nitrogênio foliar, respiração foliar e longevidade da

folha menor se comparadas a espécies de crescimento lento e conservadoras de recursos (Heberling and Fridley 2012). Outro trabalho investigou a correlação de características hidráulicas e estruturais de caules e raízes com características do EEF coletados ao redor do planeta e verificou, entre outras observações, que plantas de crescimento rápido exibiram alto LMA, baixa densidade de tecidos, alta capacidade de transporte de água, alto crescimento potencial e alto retorno energético por massa investida por tempo, sugerindo que a totalidade dos padrões estudados formavam um “espectro econômico (rápido-lento) global das plantas” (Reich 2014).

Segundo Blonder et al. (2011; 2013; 2014) a VD se correlaciona com as características do EEF citadas acima, sobretudo com a LMA (quanto maior a VD, menor a LMA), por isso, a nervação seria fundamental na composição da LMA e, conseqüentemente do EEF. Os autores ainda sugeriram um modelo preditivo do EEF a partir da VD, da IVD e do AA, “a teoria da nervação” (Blonder et al. 2011; 2013; 2014). Entretanto Sack et al (2013; 2014) acreditam que há inconsistências na teoria de Blonder et al. (2011), como circularidade matemática, número amostral insuficiente, premissas falsas e falta de correlação entre VD e LMA, e então, os autores sugeriram que a nervação está indiretamente relacionada ao EEF através do Asat e propuseram uma explicação alternativa: a “teoria do fluxo entre a rede de características foliares” (flux trait network) (Sack et al. 2013, 2014).

Em vista deste cenário, o estudo das nervuras ou nervação foliar, de plantas vasculares parece promissor, pois estas estruturas estão intimamente relacionadas ao desempenho hídrico da planta e ao seu metabolismo de carbono. Os padrões das nervuras podem não só influenciar as trocas gasosas, mas também influenciar respostas dos estômatos, o suprimento e uso da água e o crescimento (Sack and Scoffoni 2013).

Por isso, este trabalho pretende contribuir para elucidar o papel da nervação foliar na economia da planta, investigando as correlações entre algumas características funcionais do

EFF e características estruturais do caule. A hipótese sugerida é que, as características da nervação e as características morfo-fisiológicas das folhas e do caule explicarão uma porção considerável da variabilidade dos dados de trocas gasosas corroborando a “teoria do fluxo entre a rede de características foliares”.

4.2. Material e Métodos

4.2.1. Área de estudos

As áreas estudadas foram 4 parcelas permanentes do projeto Biota Gradiente Funcional instaladas no Parque Estadual da Serra do Mar (PESM), Núcleo Santa Virgínia (NSV, 23° 17' a 23° 24' S; 45° 03' a 45° 11' O) conforme apresentado no item Capítulo 1, item 1.2.1. acima (Fig. 1.2).

4.2.2. Coleta do material vegetal

A coleta das espécies vegetais selecionadas foi realizada segundo descrito no Capítulo 1, item 1.2.2. Coleta do material vegetal

4.2.3. Diafanização das folhas e visualização das nervuras

A diafanização e visualização das nervuras foram realizadas conforme descrito no Capítulo 1, item 1.2.3. Diafanização das folhas e visualização das nervuras

4.2.4. Obtenção e análise de imagens

A obtenção e análise das imagens foram realizadas conforme descritas no Capítulo 1, item 1.2.4. Obtenção e análise de imagens.

4.2.5. Coleta e determinação das características funcionais

As características funcionais estruturais e de trocas gasosas foram determinadas de acordo com (Pérez-Harguindeguy et al. 2013). Os parâmetros estruturais selecionados para o presente

trabalho foram estão especificados na Tabela 4.1 a seguir.

Tabela 4.1. Características funcionais estruturais das plantas e suas respectivas descrições.

Sigla	Variável	Unidade	Equação
LMA	Massa foliar específica	g.cm^{-2}	Razão entre massa seca da folha e área da folha fresca
LDMC	Conteúdo de matéria seca foliar	g.g^{-1}	Razão entre massa túrgida da folha e a massa seca da folha
LT	Espessura foliar	mm	Espessura da região mediana da folha evitando-se as nervuras maiores
LA.SA	Razão área foliar dividida por área do alburno	adimensional	Razão da área foliar e área do alburno
SSD	Densidade específica do ramo	g.cm^{-3}	Massa seca do ramo dividida pelo seu volume

Trocas gasosas

Para se determinar os parâmetros de trocas gasosas foi utilizado um analisador portátil de trocas gasosas por infravermelho (IRGA) LI-COR® LI-6400XT. As folhas foram coletadas em de 3 indivíduos por espécie, sendo medidas de 2-3 folhas por indivíduo. Foram selecionadas somente folhas íntegras, totalmente expandidas e em regiões da copa voltadas para a luz. Abaixo estão especificadas as características funcionais das trocas gasosas e condições de luminosidade e concentração atmosférica de CO_2 controladas pelo IRGA:

- **Assimilação de CO_2 saturada (Asat) e taxa de transpiração saturada (Esat)**
 - $[\text{CO}_2] = 400 \mu\text{mol.mol}^{-1}$
 - **Luminosidade** = $1500 \mu\text{mol.fótons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.
- **Respiração no escuro (Rd)**
 - $[\text{CO}_2] = 400 \mu\text{mol.mol}^{-1}$
 - **Luminosidade** = $0 \mu\text{mol.fótons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.
- **Assimilação máxima de CO_2 (Amax)**
 - $[\text{CO}_2] = 2000 \mu\text{mol.mol}^{-1}$

- **Luminosidade** = $1500\mu\text{mol f\acute{o}tons.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$.

4.2.6. Obtenção das características funcionais da nervação foliar

As características funcionais das nervuras, bem como a obtenção a análise de imagens foram determinadas de acordo com o Capítulo 3, item 3.2.3. Obtenção e análise de imagens e Capítulo 2, item 2.2.5. Parâmetros funcionais de venação foliar analisados

4.2.7. Análise estatística

As características funcionais de nervação foram ordenadas por meio da análise de componentes principais (PCA) com a finalidade de reduzir a dimensionalidade dos dados descartando autocorrelações e variáveis que não possuíam um grande poder preditivo.

Uma regressão linear multivariada do tipo análise de redundância (RDA) e o particionamento de variância para compreender como características funcionais estruturais e de nervação influenciam as características de trocas gasosas. Os escores da PCA com os parâmetros de nervura pré-selecionados e os escores da PCA com as características estruturais foram inseridas no modelo como variáveis preditoras, as características funcionais de trocas gasosas, como variáveis resposta. Todas as análises foram realizadas no software GNU R (R Core Development Team 2015).

4.3. Resultados

Apenas 6 parâmetros foram considerados dentre os 15 que o *script* do MATLAB mede automaticamente: (1) a densidade de nervuras menores (VD) , (2) tortuosidade das nervuras (VT), (3) número de terminações das nervuras (FEV) menores explicaram, respectivamente, 12, 7, 15 % da variabilidade do primeiro eixo da PCA; (4) a circularidade das aréolas das nervuras maiores (MVC), (5) a rugosidade das aréolas das nervuras maiores (MAR), (6) o alongamento das aréolas das nervuras maiores explicaram (MAE) 16, 20 e 19 % da variabilidade dos dados do eixo 2 da PCA. (Fig. 3.5.).

Considerando-se apenas as características acima, MAE, MAR e MAC explicaram mais de 90 % da variabilidade dos dados, enquanto VD, VT e FEV, mais de 70 % da variabilidade do eixo 2. Portanto o eixo 1 é mais relacionado com as características funcionais das nervuras maiores e o eixo 2, com as características das nervuras menores.

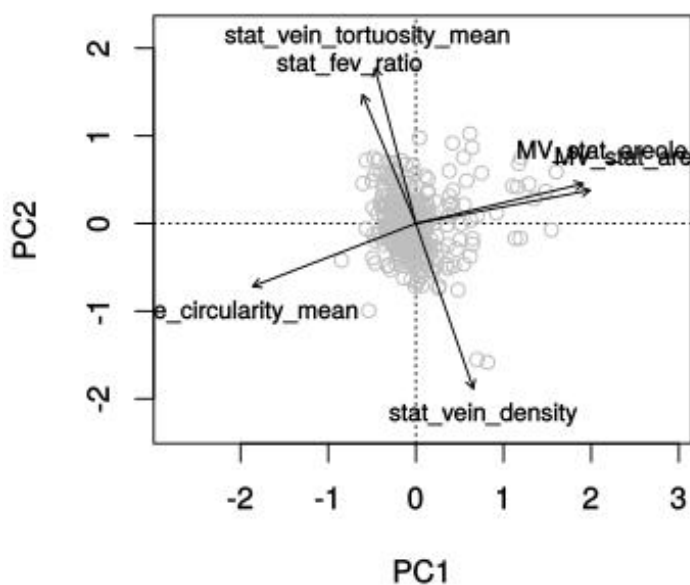


Figura 4.3. Biplot com a ordenação dos dois eixos que explicam melhor a variação nas características funcionais das nervuras foliares.

Mais de 90 % da variabilidade dos dados eixo 1 é explicada por LDMC, LMA e SSD. Enquanto mais de 85 % da variabilidade do eixo 2 é explicada por LA.SA e LT. (Fig. 4.4.).

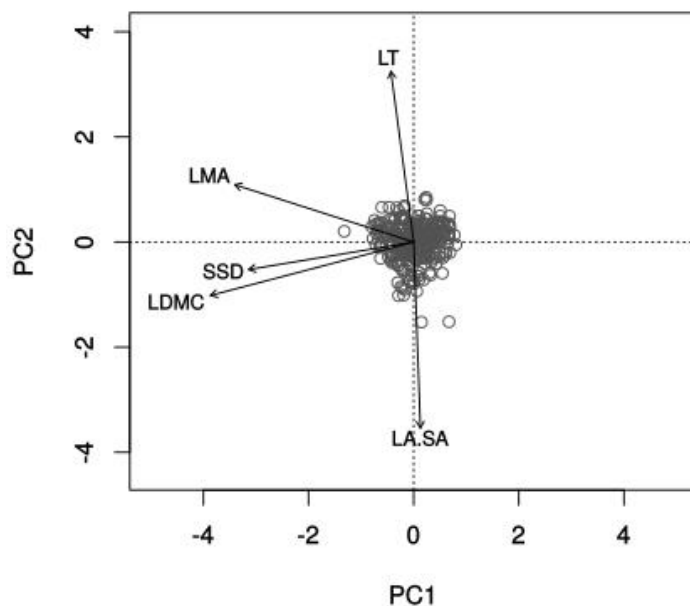


Figura 4.4. Biplot com a ordenação dos dois eixos que explicam melhor a variação nas características funcionais de trocas gasosas.

A RDA utilizou os dados das características funcionais de cada indivíduo. As variáveis morfológicas explicaram 0 % da variação dos dados de trocas gasosas, enquanto as variáveis da nervação explicaram 2 % (Fig. 4.5).

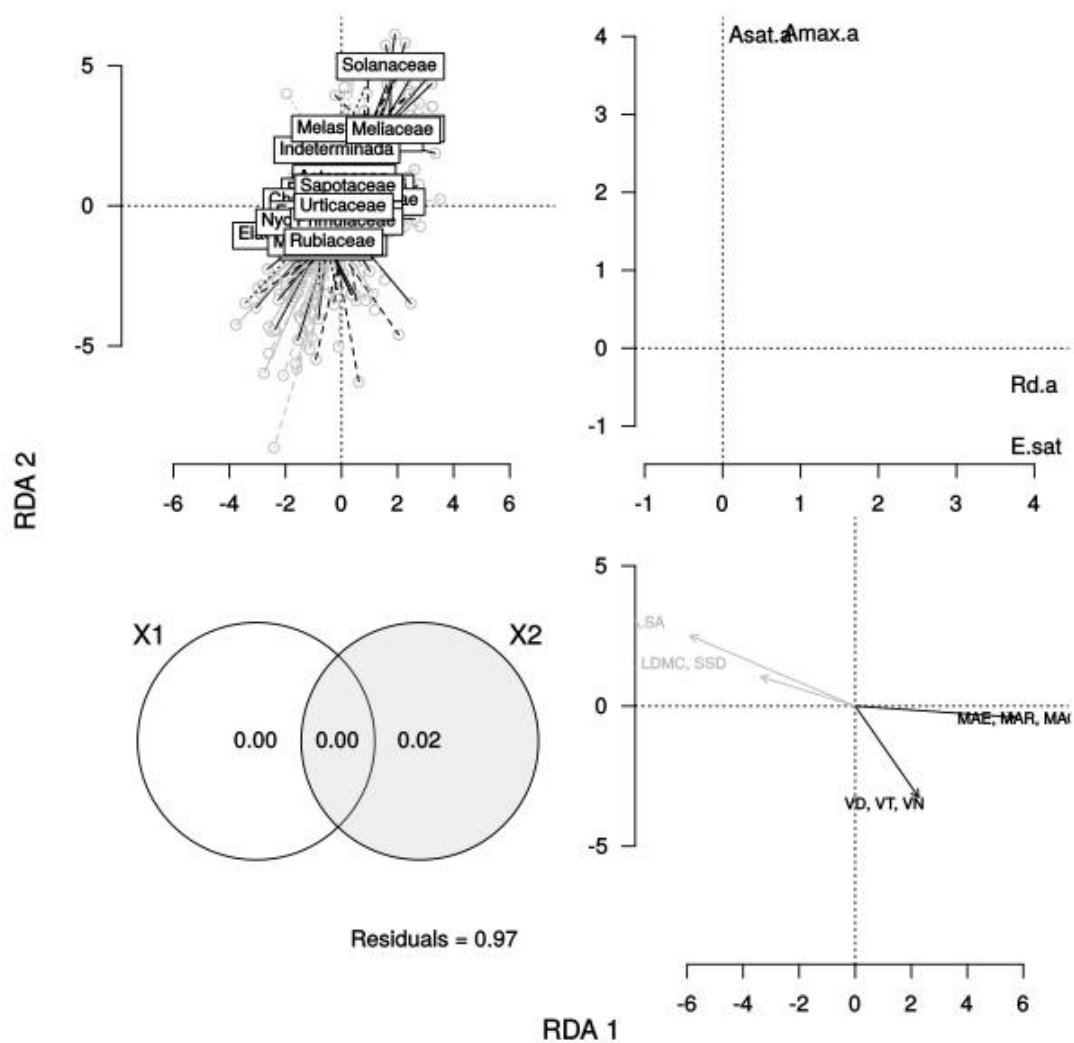


Figura 4.5. Gráficos indicando como os escores variam dentro das famílias em função das características funcionais das nervuras foliares, das trocas gasosas e das características morfológicas. No canto inferior esquerdo está representado o particionamento de variância.

4.4. Discussão

Os parâmetros funcionais da nervação foliar selecionadas neste estudo apresentam dois eixos na PCA: o primeiro eixo é representado majoritariamente por parâmetros das nervuras menores relacionados à maior capacidade de fornecimento de água para o apoplasto no mesofilo ou para as porção gasosa do parênquima lacunoso, tolerância à danos em pequena escala; o

segundo eixo é composto por parâmetros das nervuras maiores associadas à resistência à seca ou à herbivoria (Sack et al. 2013). Isso sugere um desacoplamento funcional entre essas propriedades das duas classes de nervuras.

Sack et al. (2012) coletaram dados de densidade de nervuras de 485 espécies de dicotiledôneas e verificaram que não houve correlação entre a densidade das nervuras maiores e menores. Além disso, MVD se correlacionava negativamente com a área foliar, sendo que a associação foi mais intensa com as nervuras de 1ª ordem e diminuiu com o aumento da ordem até a ausência de correlação entre a VD e área foliar.

Parece haver certa independência hidráulica entre nervação maiores e menores. Nardini et al, (2012) observaram que as nervuras de 1ª ordem de folhas de *Prunus laurocerasus* possuem baixa tolerância ao déficit hídrico manifestando um declínio na condutividade. Os pesquisadores também excisaram as nervuras 1árias nas regiões basal, mediana e apical das folhas e perceberam que as porções mais distais aos danos tiveram o fluxo de água prejudicado.

Empregando uma metodologia semelhante, porém com espécies palmadas e pinadas Sack et al. (2008) observaram que a queda na condutividade era mais intensa em nervuras 1árias. Esses estudos sugerem que as nervuras maiores possuem o papel de fornecer água para as nervuras menores e a redundância delas torna a lâmina foliar mais resistente a interrupções no fluxo hídrico por embolia ou por outros danos em maior escala como os causados por herbivoria.

O ordenamento das características funcionais da folha e do ramo aponta a associação entre LMA, LDMC e SSD, que estariam mais envolvidos com a economia da planta (Reich et al., 2014). LA.SA e LT estariam relacionados com aspectos hídricos, o primeiro indica o investimento em área foliar para a porção de xilema funcional, o segundo, está fortemente relacionado ao caminho da água no mesofilo (Brodribb et al. 2007; Pérez-Harguindeguy et al. 2013a; Blonder et al. 2017).

A RDA (Fig. 3.5.) organizou as famílias indicando que Solanaceae, representada nesse trabalho pela espécie *Solanum cinnamomeum* apresentou os maiores valores de Asat e Amax enquanto Rubiaceae, representada nesse trabalho pelas espécies *Amaioua guianensis*, *Amaioua intermedia* e *Bathysa australis*, apresentou os menores valores destas variáveis. As espécies arbóreas da família Solanaceae apresentam caracteristicamente comportamento de espécies pioneiras, normalmente ocupando áreas expostas ao sol em clareira (grandes ou pequenas) e alta atividade fotossintética e podendo ser classificada ao longo do espectro econômico como planta aquisitiva. Por outro lado, as espécies da família da Rubiaceae apresentam características de plantas adaptadas ao sobosque da floresta, normalmente apresentando características mais conservativas no espectro econômico.

O pequeno impacto das características fundamentais da nervação sobre os parâmetros de trocas gasosas e também associações fracas entre todas as variáveis estudadas sugere que as nervuras foliares não são fortemente associadas às trocas gasosas, e desse modo, sugere que a nervação não é determinante no EEF. Walls (2011) observou uma correlação fraca positiva entre a VD e Asat quando estudou a influência das nervuras foliares no espectro de economia foliar (EEF) e sugeriu que este resultado se devia à utilização de dados não pareados por indivíduos.

De acordo com Blonder et al. (2011) a densidade de nervuras determinaria o LMA, traço funcional central no EEF. John et al. (2017) estudaram detalhadamente a anatomia foliar e revelaram que a densidade da massa seca das nervuras correspondem a aproximadamente 5% do LMA. Porém, a densidade de nervuras pode influenciar indiretamente a produtividade das plantas pois determinaria a condutância foliar, que por sua vez, determinaria a condutância estomática e a taxa fotossintética. Assim a densidade de nervuras pode determinar, em parte, a taxa relativa de crescimento da planta (Sack et al. 2013). Li et al. (2015) investigaram 85 espécies de dicotiledôneas de florestas tropicais e subtropicais da China e constataram que

característica do EEF eram desacopladas das características hidráulicas, incluindo densidade de nervuras menores.

Nesse estudo, o baixo poder preditivo das características funcionais da nervação foliar podem ter ocorrido devido à falta de um amplo gradiente ambiental entre as parcelas, especialmente no que se refere as condições de precipitação e déficit hídrico. A região onde se encontram as áreas investigadas apresenta vegetação de Floresta Ombrófila Densa Montana com altos índices de precipitação anual ao longo do ano inteiro, e desse modo, a disponibilidade de água pode não ser um fator limitante a ponto de as nervuras foliares representarem uma barreira anatômica e fisiológica para o sucesso das espécies presentes nas comunidades

Yin et al. (2017) apontaram para o fato de que os experimentos que buscavam averiguar o acoplamento entre características do EEF e características hidráulicas foram realizados em vegetação de clima tropical ou subtropical com alta disponibilidade hídrica, por isso, pesquisaram a correlação entre características do EEF e características hidráulicas em florestas de clima tropical, subtropical e semiárido, revelando a associação entre os dois conjuntos de propriedades em indivíduos do clima mais seco.

Em um trabalho mais recente Li et al. (2018) tentaram caracterizar a influência de características hidráulicas no EEF entre 72 espécies do vale árido do rio Minjiang e verificaram que a densidade de nervuras menores se correlacionou positivamente com A_{sat} e longevidade foliar ressaltando as implicações dessa observação para espécies de clima árido, como otimização do ganho de carbono.

Entretanto é importante ressaltar que os dados do presente trabalho mostram tendências esperadas pelas hipóteses deste estudo. Indivíduos com maior densidade de nervuras e outros parâmetros que se correlacionam positivamente com essa característica tendem a exibir maiores taxas fotossintéticas e maior taxa de respiração sugerindo a influência da nervação no EEF.

4.5. Conclusão

O baixo poder preditivo que as nervuras foliares apresentaram sobre os parâmetros de trocas gasosas e outras características funcionais estudadas sugere que essa estrutura não são centrais na definição do EEF nas espécies dominantes da FODM, porém, elas podem influenciar as trocas gasosas, interferindo no EEF.

Referências Bibliográficas

- Blackman, C.J.; Brodribb, T.J. 2011. Two measures of leaf capacitance: Insights into the water transport pathway and hydraulic conductance in leaves. *Funct Plant Biol* 38:118–126. <https://doi.org/10.1071/FP10183>
- Blonder, B.; Salinas, N.; Bentley, L.P.; Shekin, A.; Porroa, P.O.C.; Tejeira, Y.V.; Violle, C.; Fyllas, N.M.; Goldsmith, G.R.; Martin, R.E.; Asner, G.P.; Díaz, S.; Enquist, B.J.; Malhi, Y. 2017. Predicting trait-environment relationships for venation networks along an Andes-Amazon elevation gradient. *Ecology* 98:1239–1255. <https://doi.org/10.1002/ecy.1747>
- Blonder, B.; Violle, C.; Bentley, L.P.; Enquist, B.J. 2011. Venation networks and the origin of the leaf economics spectrum. *Ecol Lett* 14:91–100. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01554.x>
- Blonder, B.; Violle, C.; Bentley, L.P.; Enquist, B.J. 2014. Inclusion of vein traits improves predictive power for the leaf economic spectrum: A response to Sack et al. (2013). *J Exp Bot* 65:5109–5114. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru143>
- Blonder, B.; Violle, C.; Enquist, B.J. 2013. Assessing the causes and scales of the leaf economics spectrum using venation networks in *Populus tremuloides*. *J Ecol* 101:981–

989. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12102>
- Boyce, C.K.; Brodribb, T.J.; Field, T.S.; Zwieniecki, M.A. 2009. Angiosperm leaf vein evolution was physiologically and environmentally transformative. *Proc R Soc B Biol Sci* 276:1771–1776. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.1919>
- Boyce, C.K.; Zwieniecki, M.A. 2012. Leaf fossil record suggests limited influence of atmospheric CO₂ on terrestrial productivity prior to angiosperm evolution. *Proc Natl Acad Sci* 109:10403–10408. <https://doi.org/10.1073/pnas.1203769109>
- Brodribb, T.J.; Field, T.S. 2010. Leaf hydraulic evolution led a surge in leaf photosynthetic capacity during early angiosperm diversification. *Ecol Lett* 13:175–183. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01410.x>
- Brodribb T.J., Field T.S., Jordan G.J. 2007. Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics. *Plant Physiol* 144:1890–1898. <https://doi.org/10.1104/pp.107.101352>
- Cochard, H.; Nardini, A.; Coll, L. 2004. Hydraulic architecture of leaf blades: Where is the main resistance? *Plant, Cell Environ* 27:1257–1267. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2004.01233.x>
- De Boer, H.J.; Eppinga, M.B.; Wassen, M.J.; Dekker, S.C. 2012. A critical transition in leaf evolution facilitated the Cretaceous angiosperm revolution. *Nat Commun* 3:1221. <https://doi.org/10.1038/ncomms2217>
- Field, T.S.; Chatelet, D.S.; Brodribb, T.J. 2009. Ancestral xerophobia: A hypothesis on the whole plant ecophysiology of early angiosperms. *Geobiology* 7:237–264. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4669.2009.00189.x>
- John, G.P.; Scoffoni, C.; Buckley, T.N.; et al. 2017. The anatomical and compositional basis of leaf mass per area. *Ecol Lett* 20:412–425. <https://doi.org/10.1111/ele.12739>

- Li, F.; Mcculloh, K.A.; Sun, S.; Bao, W. 2018. Linking leaf hydraulic properties, photosynthetic rates, and leaf lifespan in xerophytic species: a test of global hypotheses. 1858 • Am J Bot 105:1858–1868. <https://doi.org/10.1002/ajb2.1185>
- Li, L.; McCormack, M.L.; Ma, C.; et al. 2015. Leaf economics and hydraulic traits are decoupled in five species-rich tropical-subtropical forests. Ecol Lett 18:899–906. <https://doi.org/10.1111/ele.12466>
- Nardini, A.; Pedà, G.; La, Rocca N. 2012. Trade-offs between leaf hydraulic capacity and drought vulnerability: Morpho-anatomical bases, carbon costs and ecological consequences. New Phytol 196:788–798. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04294.x>
- Pérez-Harguindeguy, N.; Díaz, S.; Garnier, E.; Lavorel, S.; Poorter, H.; et al. 2013. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. Aust J Bot 61:167–234. <https://doi.org/10.1071/BT12225>
- Poorter, H; van der Werf, A. 1998. Is inherent variation in RGR determined by LAR at low light and by NAR at high light? Inherent Var plant growth Physiol Mech Ecol consequences 309–336
- Reich, P.B. 2014. The world-wide “fast-slow” plant economics spectrum: A traits manifesto. J Ecol 102:275–301. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12211>
- Reich, P.B.; Wright, I.J.; Cavender-Bares, J.; et al. 2003. The evolution of plant functional variation: traits, spectra, and strategies. Int J Plant Sci 164:S143-S164 ST-The evolution of plant functional. <https://doi.org/10.1086/374368>
- Sack, L.; Frole, K. 2006. Leaf structural diversity is related to hydraulic capacity in tropical rain forest trees. Ecology 87:483–491. <https://doi.org/10.1890/05-0710>
- Sack, L.; Scoffoni, C. 2013. Tansley review Leaf venation : structure , function ,

- development, evolution , ecology and applications in the past, present and future. *New Phytol* 198:983–1000. <https://doi.org/10.1111/nph.12253>
- Sack, L.; Scoffoni, C.; John, G.P.; et al. 2013. How do leaf veins influence the worldwide leaf economic spectrum? Review and synthesis. *J Exp Bot* 64:4053–4080. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert316>
- Sack L.; Scoffoni C.; John G.P.; et al. 2014. Leaf mass per area is independent of vein length per area: avoiding pitfalls when modelling phenotypic integration (reply to Blonder et al. 2014). *J Exp Bot* 65:eru305-. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru305>
- Sack, L.; Scoffoni, C.; McKown, A.D.; Frole, K.; Raws, M.; Havran, J.C.; Tran, H.; Tran, T. 2012. Developmentally based scaling of leaf venation architecture explains global ecological patterns. *Nat Commun* 3:837.
- Violle, C.; Navas, M-L. & Vile, D. Kazakou, E.; Fortunel, C.; Hummel, I.; Garnier, E. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos*, 116 (5): 882–892.
- Walls R.L. 2011. Angiosperm leaf vein patterns are linked to leaf functions in a global-scale data set. *Am J Bot* 98:244–253. <https://doi.org/10.3732/ajb.1000154>
- Westoby, M.; Reich, P.B.; Wright, I.J. 2013. Understanding ecological variation across species: Area-based vs mass-based expression of leaf traits. *New Phytol* 199:322–323. <https://doi.org/10.1111/nph.12345>
- Westoby, M.; Wright, I.J. 2006. Land-plant ecology on the basis of functional traits. *Trends Ecol Evol* 21:261–268. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.02.004>
- Wright, I.J.; Reich, P.B.; Westoby, M.; Ackerly, D.D.; Baruch, Z.; Bongers, F.; Cavender-Bares, J.; Chapin, T.; Cornelissen, J.H.C.; Diemer, M.; Flexas, J.; Garnier, E. et al. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature*, 428:821-827.

Yin, Q.; Wang, L.; Lei, M.; et al. 2017. The relationships between leaf economics and hydraulic traits of woody plants depend on water availability. *Sci Total Environ* 621:245–252. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.171>

Zwieniecki, M.A.; Boyce, C.K. 2014. Evolution of a unique anatomical precision in angiosperm leaf venation lifts constraints on vascular plant ecology. *Proc R Soc B Biol Sci* 281:20132829. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.2829>

4. Considerações Finais

A partir deste estudo foi possível estabelecer uma metodologia de trabalho para o estudo anatômico da nervação foliar de espécies arbóreas dominantes em comunidades vegetais da Mata Atlântica, permitindo que outros aspectos possam ser investigados no futuro em busca de melhor caracterização da influência da venação foliar na fisiologia de trocas gasosas e hídricas, transporte de metabolitos, interação animal-plantas, custos de construção e impacto das mudanças globais em ecossistemas neotropicais.

Nesse trabalho foi verificado que a nervação foliar apresentou características funcionais relacionadas à redundância, isto é, a geometria e não a densidade de nervuras representa a principal propriedade anatômica foliar capaz de distinguir as comunidades arbóreas estudadas. Assim, comunidades florestais mais avançadas na sucessão foram caracterizadas, principalmente por uma reduzida distância entre nervuras (V.dist), o que pode resultar em baixas taxas de trocas gasosas, enquanto florestas secundárias apresentaram dois tipos funcionais: um com maior número de terminações livres (FEV), potencializando o suprimento de água para os tecidos, outro com maior reticulação (MESH) conferindo maior equalização na distribuição de água pela lâmina foliar e resistência a danos.

Os resultados do capítulo 4 sugerem que as nervuras foliares exercem pouca influência sobre a economia da planta na floresta tropical estudada, possivelmente devido alta disponibilidade hídrica e homogeneidade ambiental apresentada entre elas.

Porém ainda se sabe pouco sobre o papel da nervação foliar e quais processos ecofisiológicos essa abordagem pode revelar em amplos gradientes climáticos e em outros biomas brasileiros.

Esses resultados se adequam ao objetivo i do projeto ECOFOR (ver Capítulo 1) pois indicam como as alterações humanas como o desmatamento podem impactar o funcionamento

de uma floresta ombrófila densa montana; contribuem para a compreensão da associação entre o funcionamento do ecossistema e caracteres biológicos (objetivo ii do projeto ECOFOR). Os dados obtidos poderão ser depositados em bancos de dados e serem utilizados em trabalhos que comparem a Mata Atlântica com outras vegetações do planeta a fim de investigar os padrões evolutivos e ecofisiológicos da nervação (objetivo iii do projeto ECOFOR).

Anexo

Tabela 1. Tabela original em inglês presente na documentação dos programas do MATLAB contendo todas as variáveis obtidas nas análise de imagens, unidade e descrição.

variable	units	desc
filecode	NA	original file code for traced cleared leaf image
timestamp	datetime	date and time on which image analysis was run
px_per_mm	mm ⁻¹	traced image resolution
med_filt	px	radius of median filtering on traced image before image analysis
spur_length_max	px	length of maximum vein spur removed before image analysis
stat_area_analyzed	mm ²	area of region of interest traced
stat_num_areoles	dimensionless	number of areoles in region of interest
stat_vein_density	mm ⁻¹	length of veins per unit area
stat_vein_distance_mean	mm	distance between veins (mean)
stat_vein_distance_median	mm	distance between veins (median)
stat_vein_distance_sd	mm	distance between veins (sd)
stat_vein_distance_n	dimensionless	number of areoles (n)
stat_vein_length_mean	mm	length of vein segments (mean)
stat_vein_length_median	mm	length of vein segments (median)
stat_vein_length_sd	mm	length of vein segments (sd)
stat_vein_length_n	dimensionless	number of vein segments (n)
stat_vein_tortuosity_mean	mm	tortuosity (perimeter of segment divided by length of straight-line segment connecting endpoints) of vein segments (mean)
stat_vein_tortuosity_median	mm	tortuosity (perimeter of segment divided by length of straight-line segment connecting endpoints) of vein segments (median)
stat_vein_tortuosity_sd	mm	tortuosity of vein segments (sd)
stat_vein_tortuosity_n	dimensionless	number of vein segments (n)
stat_mst_ratio	dimensionless	minimum spanning tree ratio (number of vein segments in minimum spanning tree connecting all vein junctions divided by number of vein segments in observed network, weighted by segment length)
stat_areole_elongation_mean	mm	areole elongation ratio (areole major axis length divided by minor axis length) (mean)
stat_areole_elongation_median	mm	areole elongation ratio (areole major axis length divided by minor axis length) (median)
stat_areole_elongation_sd	mm	areole elongation ratio (sd)
stat_areole_elongation_n	dimensionless	number of areoles (n)
stat_areole_roughness_mean	mm	areole roughness ratio (squared areole perimeter divided by areole area) (mean)
stat_areole_roughness_median	mm	areole roughness ratio (squared areole perimeter divided by areole area) (median)

stat_areole_roughness_sd	mm	areole roughness ratio (sd)
stat_areole_roughness_n	dimensionless	number of areoles (n)
stat_areole_circularity_mean	mm	areole circularity ratio ($4\pi \times \text{areole area} / \text{squared areole perimeter}$) (mean)
stat_areole_circularity_median	mm	areole circularity ratio ($4\pi \times \text{areole area} / \text{squared areole perimeter}$) (median)
stat_areole_circularity_sd	mm	areole circularity ratio (sd)
stat_areole_circularity_n	dimensionless	number of areoles (n)
stat_areole_loopiness	mm ⁻²	number of areoles per unit area
stat_areole_loop_index	dimensionless	loopiness per squared vein density
stat_meshedness	dimensionless	number of bounded faces of the network, as a fraction of the possible number of faces for other planar networks with the same number of vertices
stat_fev_ratio	dimensionless	fraction of vein segments that are freely ending
