



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

VITÓRIA FERREIRA JAHN

**ANATOMIA FOLIAR E ECOFISIOLOGIA DE *TRICHILIA
ELEGANS* A.JUSS. E DE *TRICHILIA PALLIDA* SW. QUE
COEXISTEM NO SUB-BOSQUE DE UMA FLORESTA
ESTACIONAL SEMIDECIDUAL DO SUL DO BRASIL**

Londrina
2018

VITÓRIA FERREIRA JAHN

**ANATOMIA FOLIAR E ECOFISIOLOGIA DE *TRICHILIA
ELEGANS* A.JUSS. E DE *TRICHILIA PALLIDA* SW. QUE
COEXISTEM NO SUB-BOSQUE DE UMA FLORESTA
ESTACIONAL SEMIDECIDUAL DO SUL DO BRASIL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Londrina como um dos requisitos à obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Pimenta

Coorientador: Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira

Londrina
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UEL

Jahn, Vitória Ferreira.

Anatomia foliar e ecofisiologia de *Trichillia elegans* A.Juss. e de *Trichillia pallida* Sw. que coexistem no sub-bosque de uma Floresta Estacional Semidecidual do sul do Brasil / Vitória Ferreira Jahn. - Londrina, 2018.
56 f. : il.

Orientador: José Antonio Pimenta.

Coorientador: Halley Caixeta de Oliveira.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, 2018.
Inclui bibliografia.

1. Folhas - Anatomia - Tese. 2. Fotossíntese - Tese. 3. Fotoinibição de plantas - Tese. 4. Ecofisiologia vegetal - Tese. I. Pimenta, José Antonio. II. Oliveira, Halley Caixeta de. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas. IV. Título.

VITÓRIA FERREIRA JAHN

**ANATOMIA FOLIAR E ECOFISIOLOGIA DE *TRICHILIA ELEGANS*
A.JUSS. E DE *TRICHILIA PALLIDA* SW. QUE COEXISTEM NO SUB-
BOSQUE DE UMA FLORESTA ESTACIONAL SEMIDECIDUAL DO
SUL DO BRASIL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Serviço Social da Universidade Estadual de Londrina, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Serviço Social.

BANCA EXAMINADORA

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Pimenta
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Halley Caixeta de Oliveira
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Edmilson Bianchini
Universidade Estadual de Londrina – UEL

Prof. Dr. Artur Berbel Lírio Rondina
Faculdades Integradas de Ourinhos – FIO

Londrina, 29 de março de 2018.

JAHN, Vitória Ferreira. **Anatomia foliar e ecofisiologia de *Trichilia elegans* A.Juss. e de *Trichilia pallida* Sw. que coexistem no sub-bosque de uma Floresta Estacional Semidecidual do sul do Brasil.** 2018. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

RESUMO

A Mata Atlântica é a segunda maior floresta pluvial tropical do continente americano, e é um bioma composto por um conjunto de formações florestais e ecossistemas associados. No Estado do Paraná, a Mata Atlântica originalmente abrangia 98% da vegetação, mas hoje estima-se 9% restantes. A fragmentação de habitat resulta na perda de nichos ecológicos funcionais e da biodiversidade. Os nichos ecológicos funcionais são o resultado da soma de fatores biológicos e ambientais, e a possibilidade de coabitação de espécies filogeneticamente próximas advêm da ocupação de nichos distintos. A comparação de estudos anatômicos e ecofisiológicos de espécies filogeneticamente próximas nos proporcionam melhor compreensão da coexistência. Este estudo teve como objetivo analisar aspectos anatômicos e ecofisiológicos de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida*, para melhor explicar a coexistência de ambas no sub-bosque da Floresta Estacional Semidecidual (FES) do Parque Estadual Mata dos Godoy (PEMG), Londrina, PR. Estudos prévios indicaram a ocupação de *T. elegans* em locais menos iluminados. As coletas ocorreram *in situ*, sendo uma em dezembro de 2016 e duas em março de 2017. As análises anatômicas foram realizadas em folhas adultas das duas espécies. Foram coletadas amostras de folhas para dosagem de pigmentos. Para avaliação de danos de fotoinibição foi medida a fluorescência da clorofila *a* e determinada a razão Fv/Fm. A curva de luz foi feita para análises de taxa fotossintética líquida (*A_{max}*), condutância estomática (*g_s*), produtividade quântica aparente da assimilação de CO₂ (Φ), concentração intercelular de CO₂ (*C_i*), eficiência instantânea de carboxilação (*k*), respiração no escuro (*Re*), eficiência do uso da água (*EUA*), eficiência intrínseca do uso da água (*EIUA*) e ponto de compensação luminoso (*PCL*). Amostras de folhas foram coletadas para dosagem de proteínas, aminoácidos livres totais, NO₃⁻, NH₄⁺. A seiva do xilema foi coletada para análises de aminoácidos livres totais, NO₃⁻ e NH₄⁺. A atividade da enzima Nitrato Redutase foi realizada *in vivo* nas folhas. *Trichilia elegans* apresentou maior parênquima esponjoso, maior teor de clorofila *b*, e menor razão clorofila *a/b*, maiores valores de taxa fotossintética líquida, produtividade quântica aparente de assimilação de CO₂, eficiência instantânea de carboxilação, eficiência no uso da água e eficiência intrínseca no uso da água, sugerindo melhor aproveitamento no uso da luz por esta espécie. *Trichilia pallida* apresentou maior parênquima paliçádico, estômatos maiores e em maior quantidade, altos teores de clorofila *a*, carotenoides, clorofilas totais, menor razão clorofila/carotenoide, condutância estomática e concentração intercelular de CO₂, sugerindo além do aproveitamento da luz, um mecanismo de fotoproteção. Com o declínio do Fv/Fm ao meio dia, sugere-se que em ambas as espécies há fotoinibição dinâmica. Os resultados das análises de metabólitos nitrogenados nas folhas e na seiva do xilema, indicam que *T. elegans* possui maior assimilação de N na raiz, e *T. pallida* na parte aérea. Dessa forma, entre os indivíduos de *T. elegans* e *T. pallida* do sub-bosque da FES do PEMG observaram-se diferenças anatômicas e ecofisiológicas que podem ser fundamentais para a coexistência destas espécies de Meliaceae.

Palavras-chave: Anatomia foliar. Fotossíntese. Luz. Metabolismo do nitrogênio. Nicho.

JAHN, Vitória Ferreira. **Leaf anatomy and ecophysiology of *Trichilia elegans* A.Juss. and of *Trichilia pallida* Sw. that coexist in the understory of a Seasonal Semideciduous Forest of Southern Brazil.** 2018. 56 p. Dissertation (Master's degree in Biological Sciences) - Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2018.

ABSTRACT

The Atlantic Forest is the second largest tropical rainforest on the American continent, and is a biome composed of a set of forest formations and associated ecosystems. In the Paraná State, the Atlantic Forest originally covered 98% of its territory, but today it is estimated to be 9% remaining. Habitat fragmentation results in the loss of functional ecological niches and biodiversity. Functional ecological niches are the result of the sum of biological and environmental factors, and the possibility of cohabitation of phylogenetically close species comes from the occupation of distinct niches. Comparison of anatomical and ecophysiological studies of phylogenetically close species gives us greater understanding of coexistence. The objective of this study was to analyze anatomical and ecophysiological aspects of *Trichilia elegans* and *Trichilia pallida*, to better explain the coexistence of both species in the understory of Seasonal Semideciduous Forest (SSF) of the State Park Mata dos Godoy, Londrina, Brazil. Previous studies have indicated the occupation of *T. elegans* in less illuminated places. The samples were collected *in situ* in the MGSP, one in December 2016 and two in March 2017. Anatomical analyzes were performed using adult leaves of both species. Leaf samples were collected for pigment dosage. For the evaluation of photoinhibition damages, the chlorophyll *a* fluorescence was measured and the Fv/Fm ratio was determined. The light curve was made for determination of maximum photosynthesis rate (*A*_{max}), stomatal conductance (*g*_s), apparent quantum efficiency of CO₂ assimilation (Φ), concentration of intercellular CO₂ (*C*_i), instantaneous carboxylation efficiency (*k*), dark respiration (*D*_r), water use efficiency (*WUE*), intrinsic water use efficiency (*iWUE*) and light compensation point (*LCP*). Leaf samples were collected for the determination of proteins, total amino-acid content, NO₃⁻ and NH₄⁺. The xylem sap was collected for analysis of total amino-acid content, NO₃⁻ and NH₄⁺. The activity of the enzyme Nitrate Reductase was performed *in vivo* in the leaves. *Trichilia elegans* presented higher spongy parenchyma, higher chlorophyll *b* content, and lower chlorophyll *a/b* ratio, higher values of maximum photosynthesis rate, apparent quantum efficiency of CO₂ assimilation, instantaneous carboxylation efficiency, water use efficiency and intrinsic water use efficiency, suggesting a better use of light by this specie. *Trichilia pallida* presented higher palisade parenchyma, larger stomata and in greater quantity, high levels of chlorophyll *a*, carotenoids, total chlorophylls, lower chlorophyll/carotenoid ratio, higher stomatal conductance and intercellular CO₂ concentration, suggesting a great use of light and also a mechanism for photoprotection. With the decline of Fv/Fm ratio in the mid-day, suggest that in both species there is dynamic photoinhibition. The results of the analysis of nitrogen metabolites in the leaves and xylem sap indicate that *T. elegans* has higher N uptake in the root and *T. pallida* in the leaves. Among the individuals of *T. elegans* and *T. pallida* in the understory of the SSF of State Park Mata dos Godoy, we observed anatomical and ecophysiological differences that may be fundamental for the coexistence of these Meliaceae species.

Key words: Ecological niche. Leaf anatomy. Light. Nitrogen metabolism. Photosynthesis.

LISTA DE FIGURAS

INTRODUÇÃO GERAL

- Fig. 1** – Localização do Parque Estadual Mata dos Godoy, Londrina, Paraná, Brasil. Fonte: Adaptado de Sofia *et al.* (2004)08
- Fig. 2** – Parque Estadual Mata dos Godoy, Londrina, Paraná, Brasil (Área coberta por floresta madura destacada em amarelo). Fonte: Google Maps, 2017 09
- Fig. 3** – Folha de *Trichilia elegans*. A - Face adaxial; B - Face abaxial. Foto: Mariana Fernandes Hertel. A escala representa 10cm no total.10
- Fig. 4** – Folha de *Trichilia pallida*. A - Face adaxial; B - Face abaxial. Foto: Mariana Fernandes Hertel. A escala representa 10cm no total11

CAPÍTULO 1

- Fig. 1** – Anatomia foliar de *Trichilia elegans* (A, C e E) e *Trichilia pallida* (B, D e F). A e B Epiderme abaxial e estômatos; C e D- Corte transversal do limbo; E e F- Corte transversal da nervura secundária. Ead = epiderme adaxial; Pp = parênquima paliçádico; Pe = parênquima esponjoso; Eab = epiderme abaxial; Cs = canal secretor; seta preta = drusas; seta branca = cristal prismático29
- Fig. 2** – Atividade máxima do fotossistema II (F_v/F_m) de folhas de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida* às 7h (branco) e 12h (pontilhado). N=9. Traço vertical acima das barras representa o erro padrão. Letras maiúsculas acima das barras comparam as espécies às 7 horas. Letras minúsculas acima das barras comparam as espécies às 12 horas. Asterisco indica diferença intraespecífica. $p < 0.05$ teste F (ANOVA)30
- Fig. 3** – Atributos fisiológicos de folhas de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida*. A – Taxa fotossintética líquida (A_{max}); B - Condutância estomática (g_s); C – Produtividade quântica aparente da

assimilação de CO₂ (Δ); D - Concentração intercelular de CO₂ (Ci); E- Eficiência instantânea de carboxilação (k); F- Respiração no Escuro (Re); GEficiência do uso da água (EUA); H- Eficiência intrínseca do uso da água (EIUA); I - Ponto de compensação luminoso (PCL). N=9. *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001 pelo teste F (ANOVA). Traço vertical acima das barras representa o erro padrão31

Fig. 4 – Conteúdo de aminoácidos livres totais, NO₃⁻ e NH₄⁺ na seiva do xilema de indivíduos adultos de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida*. A- Porcentagem de aminoácidos (branco), NO₃⁻ (pontilhado) e NH₄⁺ (hachurado). B- Valores absolutos do conteúdo de aminoácidos, NO₃⁻ e NH₄⁺ de *T. elegans* (branco) e *T. pallida* (pontilhado). N=9. * p<0.05; *** p<0.001 pelo teste F (ANOVA). Traço vertical acima das barras na figura B representa o erro padrão32

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Tab. 1** – Espessura de variáveis anatômicas de folhas de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida* (média ± erro padrão). *p<0.05; **p<0.01; pelo teste F (ANOVA). N=9 28
- Tabela 2** – Variáveis estomáticas de folhas de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida* (média ± erro padrão). ** p<0.01; *** p<0.001; pelo teste F (ANOVA). N=9 28
- Tab. 3** – Conteúdo de pigmentos fotossintéticos em folhas de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida* (média ± erro padrão). *p<0.05; **p<0.01; ***p<0.001 pelo teste F (ANOVA). N=9 28
- Tab. 4** – Conteúdo de proteínas, aminoácidos livres totais, NO₃⁻ e NH₄⁺ em folhas de indivíduos de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida* (média ± erro padrão). *** p<0.001 pelo teste F (ANOVA). N=9 32

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
LISTA DE FIGURAS	iii
LISTA DE TABELAS	v
INTRODUÇÃO GERAL	1
METODOLOGIA GERAL	7
Área de estudo	7
Caracterização das espécies	9
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
CAPÍTULO 1	16
Resumo	17
Abstract	18
1. Introdução	19
2. Material e Métodos	21
2.1 Área de estudo	21
2.2 Caracterização das espécies	22
2.3 Anatomia foliar	22
2.3 Parâmetros ecofisiológicos	24
2.4 Análise estatística	27
3. Resultados	27
4. Discussão	33
4.1 Anatomia foliar	34
4.2 Pigmentos e fluorescência da Clorofila a	35
4.3 Trocas gasosas	36
4.4 Metabolismo do nitrogênio	38
5. Conclusão	39
6. Agradecimentos	40
7. Referências bibliográficas	40

INTRODUÇÃO GERAL

A Mata Atlântica é a segunda maior floresta pluvial tropical do continente americano, que originalmente abrangia 17 estados brasileiros, em especial ao longo da costa, e penetrando até o leste do Paraguai e nordeste da Argentina. A mata originalmente cobria 1,5 milhões de km², dos quais 92% em área brasileira, e hoje abrange aproximadamente 160 mil km² (Fundação SOS Mata Atlântica e INPE, 2017). Este bioma é composto por um conjunto de formações florestais (Florestas: Ombrófila Densa, Ombrófila Mista, Ombrófila Aberta, Estacional Semidecidual e Estacional Decidual) e ecossistemas associados (Tabarelli et al., 2005). Com elevada biodiversidade e com espécies ameaçadas de extinção, a Mata Atlântica é considerada como *hotspot* da biodiversidade (Galindo Leal e Câmara, 2003; Tabarelli et al., 2005).

No Estado do Paraná, a Mata Atlântica originalmente abarcava 98% da vegetação (Fundação SOS Mata Atlântica e INPE, 2017). No norte do estado estima-se que restam cerca de 2% do total de florestas que havia (Soares e Medri, 2002). A Floresta Estacional Semidecidual é caracterizada pela sazonalidade úmido-seca com estação seca ocorrendo geralmente entre abril e setembro, incluindo o inverno, período em que até 50% das árvores perdem suas folhas (Veloso et al., 1991). A estação úmida ocorre geralmente entre outubro e março, incluindo o verão, que é marcado por precipitação intensa e árvores repletas de folhas (Hernandes et al., 2004).

A drástica redução das florestas e o isolamento dos remanescentes, com a concomitante substituição por outros tipos de vegetação ou por zonas urbanas, resultam na fragmentação de habitats (Metzger et al., 2009). A fragmentação gera grandes alterações na dinâmica dos ecossistemas, com consequente perda de nichos, acelera a perda da biodiversidade (Metzger, 2009) e a introdução de novos fatores bióticos e abióticos (Reddy et al., 2013; Haddad et al., 2015). Junto com essas mudanças ambientais, afeta muitos processos

ecológicos das populações e comunidades (Rathcke e Jules, 1993), assim como fatores genéticos nas populações (Aizen e Feinsinger, 1994).

Além da ecologia das espécies, populações e comunidades, outras características intrínsecas da biologia das espécies, como as fisiológicas e as anatômicas, contribuem para a definição de seus nichos (Rosenzweig, 1987; Lajoie e Vellend, 2015). Desta forma as diferentes espécies mantêm uma variabilidade genética importante para ocuparem seus nichos ecológicos e contribuindo para conferir maior resiliência (Haddad et al., 2015; Van Valen, 1965).

Os estudos ecofisiológicos e anatômicos de espécies filogeneticamente próximas permite maior compreensão das possíveis adaptações que resultaram na coexistência destas espécies, pois partindo de uma mesma ancestralidade, muito das características podem ter advindo de um mesmo conjunto genético (Rogstad, 1990, 1994; Pitman et al., 2002). Estas características ajudam na compreensão da coexistência e competição entre estas espécies pela ocupação de nichos semelhantes no ambiente (Cavender-Bares et al., 2004; Cianciaruso et al., 2009). No entanto, a coexistência de espécies filogeneticamente próximas é decorrente da ocupação de diferentes nichos (Cavender-Bares et al., 2004).

Os processos fisiológicos e a anatomia das folhas diferem entre as espécies arbóreas mesmo que elas apresentem proximidade filogenética (Strauss-DeBenedetti e Bazzaz, 1991; Ashton e Berlyn, 1994). As diferenças fisiológicas nas folhas das espécies arbóreas são relacionadas ao seu estágio sucessional, sua idade e a posição da copa no estrato da floresta, que também confere diferenças anatômicas às mesmas por receberem quantidades distintas de luz (Sabbi et al., 2010), indicando uma estreita associação entre adaptação anatômica e eficiência no processo fisiológico (Aasamaa e Aphalo, 2016).

Folhas que se desenvolvem em ambientes mais iluminados frequentemente apresentam maior razão entre o parênquima paliçádico e o esponjoso, dificultando o aprisionamento da luz dentro do limbo foliar. A epiderme e as paredes celulares podem ser mais desenvolvidas em relação as células das folhas que se desenvolvem com menos luminosidade e existem grandes espaços intercelulares no parênquima esponjoso (Boardman, 1977; Gommers et al., 2013; Pierik e Wit, 2014). O índice estomático e o tamanho dos estômatos variam entre as espécies da floresta tropical, mas não têm sido observadas diferenças claras entre as espécies de sombra e as espécies de sol (Goodchild et al., 1972; Sabbi et al., 2010; Chiamolera et al., 2011).

Em geral, folhas desenvolvidas em condições de menor luminosidade são mais delgadas, mais ricas em clorofilas, apresentam menor massa seca por área foliar e razão clorofila *alb* menor (Goodchild et al., 1972; Kirk e Tilney-Bassett, 1978; Sabbi et al., 2010). Isso pode ser evidenciado comparando folhas de diferentes espécies, bem como comparando folhas de uma mesma espécie sobre diferentes condições luminosas (Chiamolera et al., 2011; Goodchild et al., 1972).

As variações na intensidade luminosa podem induzir também alterações em processos fotobiológicos vegetais resultando em restrições estomáticas que dificultam a aquisição de dióxido de carbono e perda de vapor de água (Aasamaa e Aphalo, 2016). Ocorrem também limitações sobre componentes não-estomáticos, com danos para os centros de reações dos fotossistemas I e II (FSI e FSII), devido à alta luminosidade, comprometendo assim a eficiência da fotossíntese (Keren e Krieger-Liszkay, 2011). O FSII é o componente mais sensível do aparelho fotossintético que pode ser temporariamente afetado pelo estresse ambiental provocado pela alta luminosidade, antes que ocorra qualquer dano estrutural irreversível aparente (Force et al., 2003; Panda et al., 2008).

A análise da fluorescência da clorofila *a* é considerada como sendo um método eficiente, sensível, não invasivo e rápido para detectar e quantificar as alterações induzidas no aparelho fotossintético, especialmente no FSII (Mehta et al., 2010; Papageorgiou e Govindjee, 2011; Stirbet e Govindjee, 2011), em razão dos danos provocados pela alta luminosidade (fotoinibição). A técnica tem sido amplamente utilizada para avaliar os efeitos ambientais sobre o metabolismo fotossintético (Force et al., 2003; Stirbet e Govindjee, 2011).

O nitrogênio do solo tem sido reconhecido como um importante fator ecológico determinante no desenvolvimento e distribuição de espécies vegetais em ecossistemas naturais (Aidar et al., 2003; Oliveira et al., 2013; Siddique et al., 2010; Wang e Macko, 2011). Isto porque o nitrogênio participa da composição de várias biomoléculas, além de ser o nutriente absorvido diretamente do solo necessário em maiores quantidades nos tecidos vegetais, sendo, o mais limitante na produtividade de vários ecossistemas (Kraiser et al., 2011; Kusano et al., 2011). Os níveis de nitrogênio de uma planta exercem grande influência sobre uma série de processos, como a fotossíntese, o crescimento e o desenvolvimento vegetal (Foyer et al., 2001; Guo et al., 2017a; Kraiser et al., 2011; Kusano et al., 2011; Oliveira et al., 2017).

Além de serem adaptadas a diferentes luminosidades no sub-bosque, as diferentes espécies vegetais podem apresentar preferência por uma determinada fonte inorgânica de N, dependendo das condições do solo e do ambiente onde estas espécies evoluíram (Aidar et al., 2003; Oliveira e Sodek, 2013; Oliveira et al., 2017). A preferência de assimilação de nitrato (NO_3^-) como fonte de N pode ser menor quando se comparam espécies tolerantes à sombra com as intolerantes (Aidar et al., 2003). De acordo com estes autores, alta atividade da enzima nitrato redutase (NR) e elevada quantidade de NO_3^- na seiva do xilema são características apresentadas por espécies intolerantes à sombra, enquanto em espécies de estádios mais avançados da sucessão os níveis de atividade da NR e a preferência por esse íon são menores.

A alta disponibilidade de luz é vantajosa para assimilação do NO_3^- nas folhas, pois a energia para assimilação provém, principalmente, da cadeia de transporte de elétrons da fotossíntese (Smirnoff e Stewart, 1985; Nunes-Nesi et al., 2010). Diferentemente, a assimilação foliar de NO_3^- é desfavorecida em ambientes com menor possibilidade de interceptação luminosa, favorecendo então a assimilação de amônio (NH_4^+) pelas raízes, a qual necessita um menor gasto energético (Aidar et al., 2003).

A célula vegetal despende de alta quantidade de energia para absorver e assimilar o N. Assim, quando a assimilação ocorre nas folhas, elas competem pelos mesmos recursos energéticos utilizados também na fase bioquímica da fotossíntese (McCullough, 1967; Nunes et al., 1993).

A quantidade de energia necessária é mais elevada quando o NO_3^- é assimilado em comparação à assimilação direta de NH_4^+ (Dechorgnat et al., 2011). Apesar da alta quantidade de energia gasta para absorver e assimilar o NO_3^- , esta fonte é mais favorável se houver disponibilidade luminosa, pois pode ser estocada e transportada em altas concentrações nas plantas (Dechorgnat et al., 2011). As espécies arbóreas utilizam diferentes estratégias para adquirir e transportar o N disponível no ambiente (Aidar et al., 2003; Oliveira et al., 2017).

Geralmente, plantas submetidas a maior disponibilidade de luz têm maior capacidade fotossintética em comparação com plantas que estão em ambientes mais sombreados (Reich et al., 1995; Kattge et al., 2009). Indivíduos estabelecidos em clareiras são, supostamente, importantes assimiladores de NO_3^- , sendo que a sua assimilação na parte aérea não provocará prejuízo para as plantas, que com maior luminosidade terá energia suficiente tanto para suprir a fotossíntese quanto para a assimilação do nitrogênio. Por outro lado, espécies tolerantes a sombra parecem ser assimiladoras de N na raiz com uma preferência geral para a NH_4^+ (Stewart et al. 1993; Chazdon et al., 1996; Poorter, 1999; Kattge et al., 2009).

Hertel (2014) estudou seis espécies de sub-bosque da família Meliaceae (sendo cinco do gênero *Trichilia*) coabitando a Floresta Estacional Semidecidual (FES) do Parque Estadual Mata dos Godoy (PEMG). Foi observado que estas espécies apresentaram diferenças na ocupação do sub-bosque ao longo do gradiente luminoso tanto vertical quanto horizontal. Estas diferenças foram evidenciadas a partir de estudos acerca da ecologia das espécies no que diz respeito à arquitetura da copa das árvores em relação à interceptação luminosa ao longo do sub-bosque.

Em suas respectivas localizações ao longo do gradiente do sub-bosque florestal, as espécies do gênero *Trichilia* da família Meliaceae apresentaram diferenças nas arquiteturas e por consequência nas estratégias de captação da luz (Hertel, 2014). Estas diferenças na arquitetura e no aproveitamento da luminosidade no interior da floresta por espécies filogeneticamente próximas podem estar acompanhadas de diferenças também relacionados a aspectos ecofisiológicos e anatômicos.

Entre as cinco populações de espécies do gênero *Trichilia* que ocorrem no sub-bosque da FES do PEMG, em que foram estudadas relações alométricas e a luminosidade que cada indivíduo recebia (Hertel, 2014), foram encontradas diferenças mais significativas entre *Trichilia elegans* A.Juss (com indivíduos instalados em locais menos iluminados) e *Trichilia pallida* Sw. (com indivíduos instalados em locais mais iluminados). Estes resultados possibilitam supor que, entre estas duas espécies, *T. pallida* se estabelece em microambientes mais iluminados do que *T. elegans*, o que indica uma importante diferença na ocupação de nichos. Estas diferentes estratégias ecológicas, relacionadas à captação de luz, aumentam a possibilidade de coabitação no sub-bosque (Osunkoya et al., 2007; Aiba e Nakashizuka, 2009).

Considerando que o estudo de arquitetura com as espécies, típicas de sub-bosque, *Trichilia pallida* e *Trichilia elegans*, ao longo de um gradiente vertical e horizontal de

luminosidade da FES do PEMG, possibilitou inferir que estas espécies ocupam diferentes nichos ecológicos (Hertel, 2014), é plausível levantar a hipótese que estas apresentam diferenças anatômicas e ecofisiológicas. Estas diferenças seriam importantes para a adaptação destas espécies em seus respectivos nichos, contribuindo assim com a permanência, coexistência e sobrevivência delas no sub-bosque da floresta.

METODOLOGIA GERAL

Este estudo faz parte do programa de Pesquisa Ecológica de Longa Duração (PELD), processo 441540/2016-3 (CNPq/CAPES/FAPR/BC-FUNDO NEWTON).

Área de estudo

O Parque Estadual Mata dos Godoy (PEMG) (Fig. 1 e 2), criado pelo Decreto Estadual nº 5150 de 05 de junho de 1989, localiza-se no norte do Paraná, sob o Trópico de Capricórnio, no município de Londrina. O centro de visitantes está sob as coordenadas 23° 27' S e 51° 15' W. O PEMG possui uma área de 690 hectares, dos quais cerca de 500ha são de floresta madura, e sua vegetação é classificada como Floresta Estacional Semidecidual (FES) Submontana (Silveira, 2006). Atualmente o parque está conectado a outros fragmentos, perfazendo cerca de 2800ha (Vicente, 2006). Não há histórico de exploração e o fragmento de floresta do parque este está cercado por pastagens e culturas agrícolas anuais, áreas florestadas e reflorestadas (Bianchini et al., 2003; Silveira, 2006; Vicente, 2006).

A FES é caracterizada pela composição de 20 a 50% de árvores caducifólias no conjunto florestal (Veloso et al., 1991). A FES Submontana ocorre entre 100 e 750 m de altitude, nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, e também em solos de fertilidade intermediária no Brasil Central (Silveira, 2006).

Na região de Londrina, o clima é sazonal com uma estação úmida e quente entre outubro e março e uma estação seca e fria entre abril e setembro, com precipitação média anual de 1588 mm. Segundo dados obtidos da Estação Meteorológica do Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR ($23^{\circ}22' S$ e $51^{\circ}10' W$), dezembro, janeiro e fevereiro são os meses com maior precipitação, com médias mensais em torno de 200 mm. Julho e agosto são os meses mais secos, com média abaixo de 70mm. O mês mais quente é janeiro, com temperatura média de $23,9^{\circ}C$, e junho é o mês mais frio, com temperatura média de $16,9^{\circ}C$. A Estação Meteorológica do IAPAR está situada a cerca de 15 km da área de estudo. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região caracteriza-se como Cfa, clima subtropical úmido.

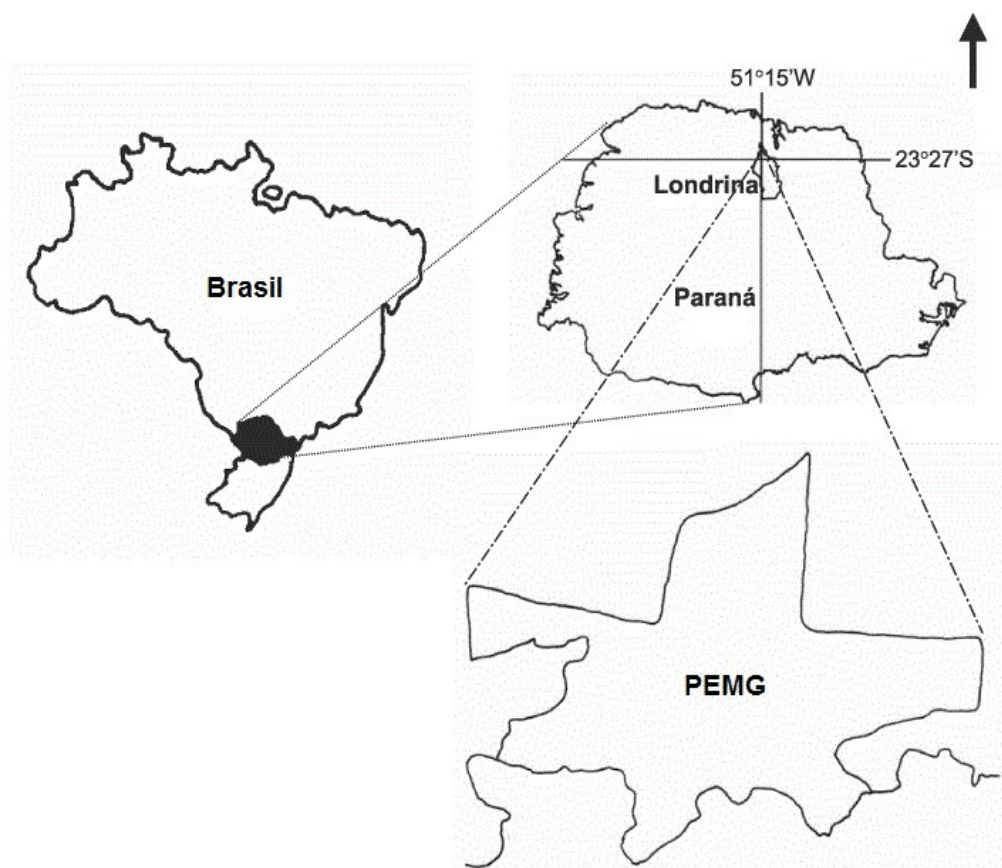


Fig. 1. Localização do Parque Estadual Mata dos Godoy (PEMG), Londrina, Paraná, Brasil. Fonte: Adaptado de Sofia et al. (2004).



Fig. 2. Parque Estadual Mata dos Godoy, Londrina, Paraná, Brasil (Área coberta por floresta madura destacada em amarelo). Fonte: Google Maps, 2017.

Caracterização das espécies

A família Meliaceae possui de 49 a 51 gêneros com cerca de 565 espécies. São reconhecidas quatro subfamílias, com sete tribos e 34 a 36 gêneros, da qual faz parte a tribo Trichilieae – a qual pertence o gênero *Trichilia* P. Browne; Swietenioideae. Neste estudo foram avaliadas duas espécies da família Meliaceae do gênero *Trichilia*: *T. elegans* A.Juss e *T. pallida* Sw., que ocorrem no sub-bosque da FES Submontana do PEMG.

Trichilia elegans: nomes vulgares: pau-de-ervilha (SC, RS), catiguá (PR, SC, RS), erva-de-cutia (SC) (Klein, 1984). Arvoretas 2-4m. Esciófita, seletiva higrófito e perene (Klein, 1984). As faces adaxiais e abaxiais das folhas desta espécie estão apresentadas na Fig. 3. Floresce entre agosto e novembro, botões florais são encontrados de agosto a outubro, e a antese ocorre de outubro a novembro no PEMG (Perina, 2011). A frutificação ocorre de

novembro a agosto, com frutos imaturos de novembro a abril e em fase de dispersão de abril a agosto (Perina, 2011). No Brasil ocorre no Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. No Paraná, ocorre em Floresta Ombrófila Densa, Floresta Ombrófila Mista, Floresta Estacional Semidecidual, Estepe Gramíneo-Lenhosa e Savana Arborizada (Patrício e Cervi, 2005).

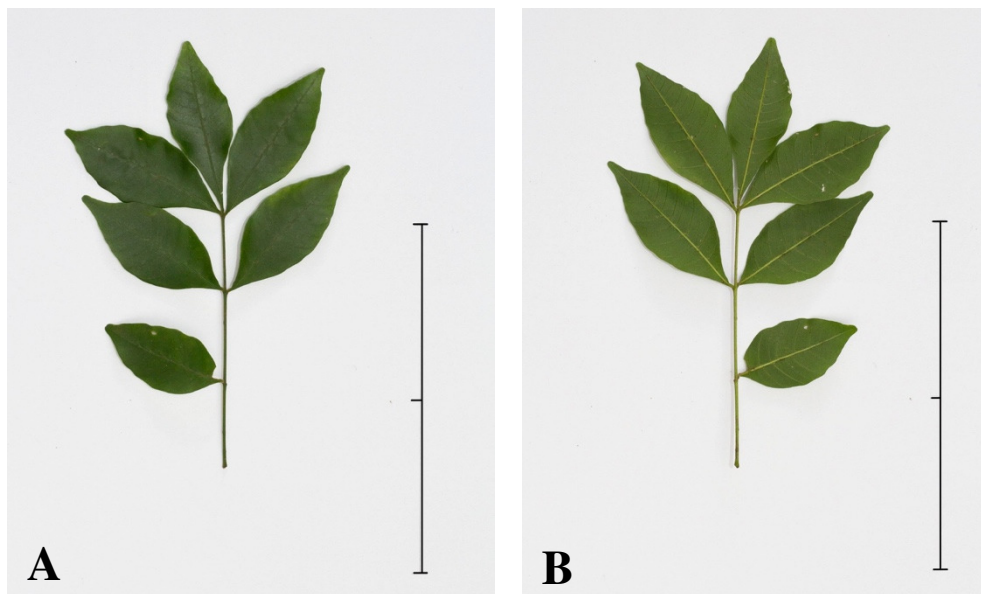


Fig. 3. Folha de *Trichilia elegans*. A – Face adaxial; B – Face abaxial. Foto: Mariana Fernandes Hertel. A escala representa 10cm no total.

Trichilia pallida: nomes vulgares: catiguá (SC/PR/ SP) (Klein 1984), catiguá-graudo (PR), tauvá (PR). Árvores ou arvoretas de 3-8 m. Espécie esciófita, seletiva higrófito e semidecídua (Klein, 1984). As faces adaxiais e abaxiais das folhas desta espécie estão apresentadas na Fig. 4. No PEMG a floração ocorre de janeiro a maio, com botões florais de janeiro a abril e em antese de fevereiro a maio; frutos imaturos são observados de fevereiro a outubro e em fase de dispersão de julho a fevereiro (Perina, 2011). No Brasil é amplamente distribuída, desde a Amazônia até ao Estado de Santa Catarina, não ocorrendo no nordeste brasileiro e no Rio Grande do Sul. No Paraná, ocorre em FES (Patrício e Cervi, 2005).



Fig. 4. Folha de *Trichilia pallida*. A – Face adaxial; B – Face abaxial. Foto: Mariana Fernandes Hertel. A escala representa 10cm no total.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aasamaa, K., Aphalo, P.J., 2016. Effect of vegetational shade and its components on stomatal responses to red, blue and green light in two deciduous tree species with different shade tolerance. *Environ. Exp. Bot.* 121, 94–101.
- Aiba, M., Nakashizuka, T., 2009. Architectural differences associated with adult stature and wood density in 30 temperate tree species. *Funct. Ecol.* 23, 265–273.
- Aidar, M.P.M., Schmidt, S., Moss, G., Stewart, G.R., Joly, C.A., 2003. Nitrogen use strategies of neotropical rainforest trees in threatened Atlantic Forest. *Plant, Cell Environ.* 26, 389–399.
- Aizen, M.A., Feinsinger, P., 1994. Forest fragmentation, pollination, and plant reproduction in a Chaco Dry Forest, Argentina. *Ecology* 75, 330–351.
- Ashton, P. M. S., & Berlyn, G. P., 1994. A comparison of leaf physiology and anatomy of *Quercus* (section *Erythrobalanus*-Fagaceae) species in different light environments. *American Journal of Botany*, 589-597.
- Bianchini, E., Popolo, R.S., Dias, M.C., Pimenta, J.A., 2003. Diversidade e estrutura de espécies arbóreas em área alagável do município de Londrina, sul do Brasil. *Acta bot. bras* 17, 405–419.
- Cavender-Bares, J., Ackerly, D.D., Baum, D.A., Bazzaz, F.A., 2004. Phylogenetic overdispersion in Floridian oak communities. *Am. Nat.* 163, 823–43.
- Chazdon, R.L., Pearcy, R.W., Lee, D.W., Fetcher, N., 1996. Photosynthetic responses of

- tropical forest plants to contrasting light environments. *Tropical Forest Plant Ecophysiology*. Springer US, Boston, MA, pp. 5–55.
- Chiamolera, L.D.B., Ângelo, A.C., Boeger, M.R., Araújo, F.C., 2011. Aspectos anatômicos e fisiológicos de folhas de *Mimosa scabrella* de áreas com diferentes graus de sucessão. *Rev. Floresta* 41, 435–450.
- Cianciaruso, M.V., Silva, I.A., Batalha, M.A., 2009. Diversidades filogenética e funcional: novas abordagens para a ecologia de comunidades. *Biota Neotrop.* 9, 93–103.
- Dechorgnat, J., Nguyen, C.T., Armengaud, P., Jossier, M., Diatloff, E., Filleur, S., Daniel-Vedele, F., 2011. From the soil to the seeds: the long journey of nitrate in plants. *J. Exp. Bot.* 62, 1349–1359.
- Force, L., Critchley, C., van Rensen, J.J.S., 2003. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. *Photosynth. Res.* 78, 17–33.
- Foyer, C.H., Ferrario-Méry, S., Noctor, G., 2001. Interactions between carbon and nitrogen metabolism. *Plant Nitrogen*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 237–254.
- Fundação SOS Mata Atlântica, INPE, 2017. Atlas dos remanescentes florestais da mata Atlântica período 2015-2016. Fundação SOS Mata Atlântica Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. Relatório Técnico 69.
- Galindo-Leal, C., Câmara, I. D. G., 2003. Atlantic Forest hotspot status: an overview. *The Atlantic Forest of South America: biodiversity status, threats, and outlook*, 3-11.
- Gommers, C.M.M., Visser, E.J.W., Onge, K.R.S., Voesenek, L.A.C.J., Pierik, R., 2013. Shade tolerance: when growing tall is not an option. *Trends Plant Sci.* 18, 65–71. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2012.09.008>
- Goodchild, D.J., Bjorkman, O., Pyliotis, N.A., 1972. Chloroplast ultrastructure, leaf anatomy, and content of chlorophyll and soluble protein in rainforest species.
- Guo, S., Zhou, Y., Shen, Q., Zhang, F., 2007. Effect of ammonium and nitrate nutrition on some physiological processes in higher plants - growth, photosynthesis, photorespiration, and water relations. *Plant Biol.* 9, 21–29.
- Hernandes, J. L., Júnior, P., José, M., Bardin, L., 2004. Seasonal variation of solar radiation at an open site and on a semideciduous forest understory. *Revista Árvore*, 28(2), 167-172.
- Hertel, M.F., 2014. Arquitetura de espécies de sub-bosque de Meliaceae em Floresta Estacional Semidecidual Submontana do Sul do Brasil. Dissertação. (Mestrado em Ciências Biológicas). UEL - Universidade Estadual de Londrina.
- Kattge, J., Knorr, W., Raddatz, T., Wirth, C., 2009. Quantifying photosynthetic capacity and its relationship to leaf nitrogen content for global-scale terrestrial biosphere models. *Glob. Chang. Biol.* 15, 976–991.
- Keren, N., Krieger-Liszkay, A., 2011. Photoinhibition: molecular mechanisms and physiological significance. *Physiol. Plant.* 142, 1–5.

- Kirk J.T. & Tilney-Bassett R.A., 1978. Proplastids, etioplasts, amyloplasts, chromoplasts and other plastids. In the plastids: their chemistry, structure, growth and inheritance (eds S.T. Kirk & R.A. Tilney-Bassett), pp. 217–239. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam, Holand.
- Klein, R.M., 1984. Flora Ilustrada Catarinense: Meliaceas. Herbario “Barbosa Rodrigues”. Itajaí.
- Kraiser, T., Gras, D.E., Gutierrez, A.G., Gonzalez, B., Gutierrez, R.A., 2011. A holistic view of nitrogen acquisition in plants. *J. Exp. Bot.* 62, 1455–1466.
- Kusano, M., Fukushima, A., Redestig, H., Saito, K., 2011. Metabolomic approaches toward understanding nitrogen metabolism in plants. *J. Exp. Bot.* 62, 1439–1453.
- Lajoie, G., Vellend, M., 2015. Understanding context dependence in the contribution of intraspecific variation to community trait–environment matching. *Ecology* 96, 2912–2922.
- McCullough, H., 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clin. Chim. Acta* 17, 297–304.
- Mehta, P., Jajoo, A., Mathur, S., Bharti, S., 2010. Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on Photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiol. Biochem.* 48, 16–20.
- Metzger, J.P., 2009. Conservation issues in the Brazilian Atlantic forest. *Biol. Conserv.* 142, 1138–1140.
- Metzger, J. P., Martensen, A. C., Dixo, M., Bernacci, L. C., Ribeiro, M. C., Teixeira, A. M. G., & Pardini, R., 2009. Time-lag in biological responses to landscape changes in a highly dynamic Atlantic forest region. *Biological conservation*, 142(6), 1166-1177.
- Nunes, M.A., Ramalho, J.D.C., Dias, M.A., 1993. Effect of nitrogen supply on the photosynthetic performance of leaves from coffee plants exposed to bright light. *J. Exp. Bot.* 44, 893–899.
- Nunes-Nesi, A., Fernie, A.R., Stitt, M., 2010. Metabolic and signaling aspects underpinning the regulation of plant carbon nitrogen interactions. *Mol. Plant* 3, 973–996.
- Oliveira, H.C., Freschi, L., Sodek, L., 2013. Nitrogen metabolism and translocation in soybean plants subjected to root oxygen deficiency. *Plant Physiol. Biochem.* 66, 141–149.
- Oliveira, H.C., Sodek, L., 2013. Effect of oxygen deficiency on nitrogen assimilation and amino acid metabolism of soybean root segments. *Amino Acids* 44, 743–755.

<https://doi.org/10.1007/s00726-012-1399-3>

- Oliveira, H.C., Silva, L.M.I., Freitas, L.D., Debiassi, T.V., Marchiori, N.M., Aidar, M.P.M., Bianchini, E., Pimenta, J.A., Stolf-Moreira, R., 2017. Nitrogen use strategies of seedlings from neotropical tree species of distinct successional groups. *Plant Physiol. Biochem.* 114, 119–127.
- Osunkoya, O.O., Omar-Ali, K., Amit, N., Dayan, J., Daud, D.S., Sheng, T.K., 2007. Comparative height crown allometry and mechanical design in 22 tree species of Kuala Belalong rainforest, Brunei, Borneo. *Am. J. Bot.* 94, 1951–1962.
- Panda, D., Sharma, S.G., Sarkar, R.K., 2008. Chlorophyll fluorescence parameters, CO₂ photosynthetic rate and regeneration capacity as a result of complete submergence and subsequent re-emergence in rice (*Oryza sativa* L.). *Aquat. Bot.* 88, 127–133.
- Papageorgiou, G.C., Govindjee, 2011. Photosystem II fluorescence: slow changes – scaling from the past. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 104, 258–270.
- Patrício, P.C., Cervi, A.C., 2005. O gênero *Trichilia* P. Browne (Meliaceae) no Estado do Paraná, Brasil. *Acta Biológica Paranaense.* 34(1-4): 27-71.
- Perina, B.B., 2011. Fenologia de espécies arbóreas de uma floresta estacional semidecidual do Sul do Brasil. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). UEL- Universidade Estadual de Londrina.
- Pierik, R., de Wit, M., 2014. Shade avoidance: phytochrome signalling and other aboveground neighbour detection cues. *J. Exp. Bot.* 65, 2815–2824.
- Pitman, N.C.A., Terborgh, J.W., Silman, M.R., Núñez V., P., Neill, D.A., Cerón, C.E., Palacios, W.A., Aulestia, M., 2002. A comparison of tree species diversity in two upper amazonian forests. *Ecology* 83, 3210–3224.
- Poorter, L., 1999. Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. *Funct. Ecol.* 13, 396–410.
- Rathcke, B.J., Jules, E.S., 1993. Habitat fragmentation and plant–pollinator interactions. *Current Science*, 273-277.
- Reddy, C.S., Sreelekshmi, S., Jha, C.S., Dadhwal, V.K., 2013. National assessment of forest fragmentation in India: landscape indices as measures of the effects of fragmentation and forest cover change. *Ecol. Eng.* 60, 453–464.
- Reich, P.B., Ellsworth, D.S., Uhl, C., 1995. Leaf carbon and nutrient assimilation and conservation in species of differing successional status in an oligotrophic amazonian forest. *Funct. Ecol.* 9, 65-76.
- Rogstad, S.H., 1990. The biosystematics and evolution of the *Polyalthia hypoleuca* species complex (Annonaceae) of Malesia. II. Comparative distributional ecology. *J. Trop. Ecol.* 6, 387–408.
- Rogstad, S.H., 1994. The biosystematics and evolution of the *Polyalthia hypoleuca* species complex (Annonaceae) of Malesia. III. Floral Ontogeny and Breeding Systems. *Am. J.*

Bot. 81, 145.

- Rosenzweig, M.L., 1987. Habitat selection as a source of biological diversity. *Evol. Ecol.* 1, 315–330.
- Sabbi, L. C., Ângelo, A. C., Boeger, M.R., 2010. Influência da luminosidade nos aspectos morfoanatômicos e fisiológicos de folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae) implantadas em duas áreas com diferentes graus de sucessão, nas margens do Reservatório Iraí, Paraná, Brasil. *IHERINGIA Série Botânica* 65, 171–181.
- Siddique, I., Vieira, I.C.G., Schmidt, S., Lamb, D., Carvalho, C.J.R., Figueiredo, R. O., Blomberg, S., Davidson, E.A., 2010. Nitrogen and phosphorus additions negatively affect tree species diversity in tropical forest regrowth trajectories. *Ecology* 91, 2121–2131.
- Silveira, M., 2006. A vegetação do Parque Estadual Mata dos Godoy. In: Torezan, J.M.D. (Ed.), *Ecologia do Parque Estadual Mata dos Godoy*. ITEDES, Londrina, pp. 19–27.
- Smirnoff, N., Stewart, G.R., 1985. Nitrate assimilation and translocation by higher plants: comparative physiology and ecological consequences. *Physiol. Plant.* 64, 133–140.
- Sofia, S.H., Santos, A.M., Silva, C.R.M., 2004. Euglossine bees (Hymenoptera, Apidae) in a remnant of Atlantic Forest in Paraná State, Brazil. *Iheringia. Série Zoologia*, 94(2), 217–222.
- Souza, V., & Lorenzi, H. (2008). *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II*.
- Stewart, G.R., Pate, J.S., Unkovich, M., 1993. Characteristics of inorganic nitrogen assimilation of plants in fire-prone Mediterranean-type vegetation. *Plant, Cell Environ.* 16, 351–363.
- Stirbet, A., Govindjee, 2011. On the relation between the Kautsky effect (chlorophyll a fluorescence induction) and photosystem II: basics and applications of the OJIP fluorescence transient. *J. Photochem. Photobiol. B Biol.* 104, 236–257.
- Strauss-Debenedetti, S., Bazzaz, F.A., 1991. Plasticity and acclimation to light in tropical Moraceae of different successional positions. *Oecologia* 87, 377–387.
- Tabarelli, M., Pinto, L. P., Silva, J. M. C., Hirota, M. M., Bedê, L. C., 2005. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. *Megadiversidade*, 1(1), 132–138.
- Veloso, H.P., Lourenço, A., Filho, R.R., Carlos, J., Lima, A., 1991. Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal. IBGE, Rio de Janeiro.
- Vicente, R.F., 2006. O Parque Estadual Mata dos Godoy. In: Torezan, J.M.D. (Ed.), *Ecologia do Parque Estadual Mata dos Godoy*. ITEDES, Londrina, pp. 13–18.
- Wang, L., Macko, S.A., 2011. Constrained preferences in nitrogen uptake across plant species and environments. *Plant. Cell Environ.* 34, 525–534.

CAPÍTULO 1

Anatomia foliar e ecofisiologia de *Trichilia elegans* A.Juss. e de *Trichilia pallida* Sw. que coexistem no sub-bosque de uma Floresta Estacional Semidecidual do sul do Brasil.

Artigo a ser submetido ao periódico **Environmental and Experimental Botany** – <https://www.elsevier.com/journals/environmental-and-experimental-botany/0098-8472/guide-for-authors>

Anatomia foliar e ecofisiologia de *Trichilia elegans* A.Juss. e de *Trichilia pallida* Sw. que coexistem no sub-bosque de uma Floresta Estacional Semidecidual do sul do Brasil.

Destaques (*Highlights*)

- Coexistência de espécies filogeneticamente próximas no sub-bosque florestal.
- Comparação da anatomia foliar de espécies filogeneticamente próximas.
- Parâmetros ecofisiológicos de espécies filogeneticamente próximas.
- Diferenças anatômicas e ecofisiológicas de espécies filogeneticamente próximas que ajudam explicar a coexistência nos seus respectivos nichos.

Resumo

Os diferentes nichos possibilitam a coexistência de populações de espécies filogeneticamente próximas. Os estudos anatômicos e ecofisiológicos com estas espécies nos proporcionam maior compreensão da coexistência, visto que a proximidade filogenética minimiza interferências de processos evolutivos e/ou homoplasia. Este estudo teve como objetivo analisar aspectos anatômicos e ecofisiológicos de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida*, para explicar a coexistência de ambas no sub-bosque da Floresta Estacional Semidecidual (FES) do Parque Estadual Mata dos Godoy (PEMG), Londrina, PR. Estudos indicaram ocupação de *T. elegans* em locais menos iluminados. As coletas ocorreram *in situ* no PEMG em dezembro de 2016 e em março de 2017. As análises anatômicas foram realizadas em folhas adultas das duas espécies. Foram coletadas amostras de folhas para dosagem de pigmentos. Para avaliação de danos de fotoinibição foi medida a fluorescência da clorofila *a* e determinada a razão F_v/F_m . A curva de luz foi feita para análises de taxa fotossintética líquida (A_{max}), condutância estomática (g_s), produtividade quântica aparente da assimilação de CO_2 (α), concentração intercelular de CO_2 (C_i), eficiência instantânea de carboxilação (k), respiração no escuro (Re), eficiência do uso da água (EUA), eficiência intrínseca do uso da água ($EIUA$) e ponto de compensação luminoso (PCL). Amostras de folhas foram coletadas para dosagem de proteínas, aminoácidos livres totais, NO_3^- e NH_4^+ . A seiva do xilema foi coletada para análises de aminoácidos livres totais, NO_3^- e NH_4^+ . A atividade da enzima Nitrato Redutase foi realizada *in vivo*. *Trichilia elegans* apresentou maior parênquima esponjoso, maior teor de clorofila *b*, menor razão clorofila *a/b*, maiores valores de A_{max} , α , k , EUA e $EIUA$, sugerindo melhor aproveitamento no uso da luz por esta espécie. *Trichilia pallida* apresentou maior parênquima paliçádico, estômatos maiores e em maior quantidade, altos teores de clorofila *a*, carotenoides, clorofilas totais, menor razão clorofila/carotenoide, g_s e C_i , sugerindo além do aproveitamento da luz, um mecanismo de fotoproteção. Com o declínio do F_v/F_m ao meio dia, sugere-se que em ambas as espécies há fotoinibição dinâmica. Os resultados das análises de metabólitos nitrogenados nas folhas e na

seiva do xilema, indicam que *T. elegans* possui maior assimilação de N na raiz do que *T. pallida*. Verificou-se em *T. pallida* características do metabolismo do nitrogênio mais próximas de plantas de sol. *T. elegans* e *T. pallida* da FES do PEMG apresentaram diferenças anatômicas e ecofisiológicas que podem ser muito importantes para a coexistência delas no sub-bosque da floresta.

Palavras-chave: anatomia foliar, fotossíntese, luz, metabolismo do nitrogênio, nicho.

Abstract

The different niches allow a cohabitation of phylogenetically close species. The anatomical and ecophysiological studies with these species provide us with a better understanding of coexistence, since phylogenetic proximity minimizes interferences of evolutionary processes and/or homoplasia. The objective of this study was to analyze anatomical and ecophysiological aspects of *Trichilia elegans* and *Trichilia pallida*, to explain the coexistence of both in the understory of Seasonal Semideciduous Forest (SSF) of State Park Mata dos Godoy, Londrina city, Brazil. Studies have indicated the occupation of *T. elegans* in less lighted places. The samples were collected *in situ*, one in December 2016 and two in March 2017. Anatomical analyzes were performed using adult leaves of both species. Leaf samples were collected for pigment dosage. For the evaluation of photoinhibition damages, the chlorophyll *a* fluorescence was measured and the Fv/Fm ratio was determined. The light curve was made for determination of maximum photosynthesis rate (A_{max}), stomatal conductance (g_s), apparent

quantum efficiency of CO₂ assimilation (α), concentration of intercellular CO₂ (C_i),

instantaneous carboxylation efficiency (k), dark respiration (D_r), water use efficiency (WUE), intrinsic water use efficiency ($iWUE$) and light compensation point (LCP). Leaf samples were collected for the determination of proteins, total amino-acid content, NO₃⁻ and NH₄⁺. The xylem sap was collected for analysis of total amino-acid content, NO₃⁻ and NH₄⁺. The activity of the enzyme Nitrate Reductase was performed *in vivo*. *Trichilia elegans* presented higher spongy parenchyma, higher chlorophyll *b* content, and lower chlorophyll *a/b* ratio, higher values of maximum photosynthesis rate, apparent quantum efficiency of CO₂ assimilation, instantaneous carboxylation efficiency, water use efficiency and intrinsic water use efficiency, suggesting a better use of light by this specie. *Trichilia pallida* presented higher palisade parenchyma, larger stomata and in greater quantity, high levels of chlorophyll *a*, carotenoids, total chlorophylls, lower chlorophyll/carotenoid ratio, higher stomatal conductance and intercellular CO₂ concentration, suggesting a great use of light and also a mechanism for photoprotection. With the decline of Fv/Fm ratio in the mid-day, suggest that in both species there is dynamic photoinhibition. The results of the analysis of nitrogen metabolites in the leaves and xylem sap indicate that *T. elegans* has higher N uptake in the root and *T. pallida* in the leaves. Among *T. elegans* and *T. pallida* of the SSF of State Park Mata dos Godoy presented anatomical and ecophysiological differences that may be very important for their coexistence in the understory of the forest.

Key words: ecological niche, leaf anatomy, light, nitrogen metabolism, photosynthesis.

1. Introdução

A fragmentação de habitat é consequência da significativa redução das florestas e do isolamento dos remanescentes, resultando em grandes alterações na dinâmica dos ecossistemas, perda de nichos e da biodiversidade (Metzger et al. 2009; Mahamane et al., 2017), e a introdução de novos fatores bióticos e abióticos (Reddy et al., 2013; Haddad et al., 2015). Nichos são determinados através de uma soma de fatores ecológicos, anatômicos e fisiológicos, intrínsecos à biologia das espécies e do ecossistema, permitindo a coexistência (Mörsdorf et al., 2015). A coexistência de espécies filogeneticamente próximas em um mesmo ambiente é permitida pela ocupação de nichos funcionais distintos (Cavender-Bares et al., 2004). Estudos anatômicos e ecofisiológicos de espécies com esta característica nos proporcionam maior compreensão das adaptações intrínsecas que contribuem para a coexistência destas espécies (Collier et al., 2017).

As folhas apresentam plasticidade em resposta às intensidades luminosas às quais estão expostas (Loreto et al., 2009; Portes et al., 2010). Folhas que se desenvolvem em ambientes mais iluminados frequentemente apresentam parênquima paliçádico mais desenvolvido, enquanto as que se desenvolvem com menor luminosidade apresentam parênquima esponjoso desenvolvido com grandes espaços intercelulares (Gommers et al., 2013; Pierik and de Wit, 2014). Parâmetros anatômicos como a espessura foliar e o índice estomático podem variar entre as espécies tropicais, sem relação com a variação luminosa (Chiamolera et al., 2011; Sabbi et al., 2010).

Alterações em processos fotobiológicos são induzidos por altas e baixas variações da intensidade luminosa, causando restrições estomáticas que dificultam a aquisição de dióxido de carbono e perda de vapor de água, bem como limitações sobre componentes não-estomáticos, como interferências nos componentes da cadeia de transporte de elétrons,

comprometendo a eficiência da fotossíntese (Keren e Krieger-Liszkay, 2011). O fotossistema II (PSII) é o componente mais sensível do aparelho fotossintético que pode ser afetado temporariamente pelo estresse ambiental provocado pela alta luminosidade, antes do surgimento de qualquer dano estrutural e irreversível aparente (Force et al., 2003; Panda et al., 2008, 2017).

O nitrogênio (N) é de grande importância para a constituição de biomoléculas. Sua assimilação depende de alto gasto energético e seus níveis apresentam grande influência sobre a fotossíntese e o desenvolvimento vegetal (Guo et al., 2007; Kraiser et al., 2011; Kusano et al., 2011). As espécies vegetais podem apresentar preferências quanto à fonte inorgânica de N que obtêm do solo (Aidar et al., 2003; Britto e Kronzucker, 2013), sendo fator ecológico de determinação e distribuição das espécies nos ecossistemas (Aidar et al., 2003; Wang e Macko, 2011), e não está somente associada com a posição sucessional, mas também a ocupação do nicho (Oliveira et al., 2017). Estes fatores contribuem para explicar a coexistência e a diversidade das florestas neotropicais (Britto e Kronzucker, 2013).

Nitrato (NO_3^-) e amônio (NH_4^+) são as principais fontes inorgânicas de N utilizada pelas plantas (Miller and Cramer, 2004). A demanda energética durante a assimilação de NO_3^- é maior, porém vantajosa em comparação ao NH_4^+ , pois é atóxico e pode ser transportado e estocado em grandes quantidades nas plantas (Britto e Kronzucker, 2002; Dechorgnat et al., 2011). Plantas com maior disponibilidade de luz têm maior capacidade fotossintética (Reich et al. 1995), e podem priorizar a assimilação de NO_3^- nas folhas, sem trazer prejuízos para a fotossíntese (Stewart et al., 1993; Chazdon et al., 1996; Kattge et al., 2009), enquanto espécies que ocorrem em ambientes mais sombreadas podem priorizar a assimilação de NH_4^+ diretamente na raiz (Aidar et al., 2003; Oliveira et al., 2017). A atividade da enzima nitrato redutase (NR) e a maior quantidade de NO_3^- nas folhas e na seiva do xilema

de espécies de locais mais iluminados sugerem relação da adaptação a maiores condições de luminosidade com a preferência por este ânion (Aidar et al., 2003).

Em estudo desenvolvido por Hertel (2014) na Floresta Estacional Semidecidual (FES) do Parque Estadual Mata dos Godoy (PEMG), com cinco populações de sub-bosque do gênero *Trichilia*, relacionou-se arquitetura da copa com a interceptação de luz pelos indivíduos. Foi observado, que *Trichilia elegans* A.Juss ocupava locais menos iluminados do que *Trichilia pallida* Sw. (Hertel, 2014). Diferentes estratégias ecológicas relacionadas à captação de luz aumentam a possibilidade de coexistência no sub-bosque devido à ocupação de diferentes nichos ecológicos (Osunkoya et al., 2007; Aiba e Nakashizuka, 2009).

Considerando que foi sugerido por Hertel (2014) que *T. elegans* e *T. pallida* ocupam diferentes nichos ecológicos no sub-bosque da FES, pode-se inferir que, além de diferenças ecológicas na ocupação de ambientes com diferentes luminosidades, estas espécies apresentam também diferenças anatômicas e ecofisiológicas. Com a expectativa que as respostas anatômicas e ecofisiológicas de *T. elegans* e *T. pallida* estejam relacionadas à preferência diferenciada pela luminosidade no sub-bosque da FES do PEMG, neste estudo levantamos a questão. Quais diferenças na anatomia foliar, nos parâmetros fotossintéticos e no metabolismo do nitrogênio são importantes para explicar a coexistência de *Trichia elegans* e *Trichilia pallida*, espécies filogeneticamente próximas, no sub-bosque da floresta?

2. Material e Métodos

2.1 Área de estudo

O estudo foi realizado no Parque Estadual Mata dos Godoy (PEMG), localizado sob o Trópico de Capricórnio no município de Londrina, Paraná, Brasil, sob as coordenadas 23°27'S e 51°15'W. O Parque possui 680 ha de área pertencente à Floresta Estacional Semidecidual

Submontana, caracterizada pela composição de 20 a 50% de árvores caducifólias (Veloso et al., 1991). Não há histórico de exploração no fragmento florestal e este está cercado por pastagens e culturas agrícolas anuais, áreas florestadas e reflorestadas (Bianchini et al., 2003). O solo é mosaico entre manchas de Latossolo Vermelho Eutroférico e Nitossolo Vermelho Eutroférico.

Na região de Londrina, o clima é sazonal com uma estação úmida e quente entre outubro e março e uma estação seca e fria entre abril e setembro, com precipitação média anual de 1588 mm e com temperatura média anual de 20,9°C. Segundo dados obtidos da Estação Meteorológica do Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR (23°22' S e 51°10' W), janeiro e fevereiro são os meses com maior precipitação, com médias mensais de 200 mm, julho e agosto são os meses com menor precipitação, com médias mensais de 49mm. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região caracteriza-se como Cfa, clima subtropical úmido.

2.2 Caracterização das espécies

As espécies estudadas foram *Trichilia elegans* A.Juss. e *Trichilia pallida* Sw. (Meliaceae), sendo *T. elegans* seletiva higrófito, esciófito e perene, enquanto *T. pallida* é uma seletiva higrófito, esciófito e semidecídua (Chagas et al., 2004; Klein, 1984; Patrício e Cervi, 2005; Perina, 2011).

2.3 Anatomia foliar

Para parâmetros de anatomia, foram coletadas, *in situ*, folhas adultas da região mediana da copa, em março de 2017. Foram coletadas amostras de 0,5cm² de uma folha totalmente expandida da região mediana do limbo de 9 indivíduos adultos de cada espécie. As amostras foram coletadas, sem nervura central, fixadas em FAA 50% e estocadas em álcool 70%, em seguida, foram desidratadas em série etílica crescente e incluídas em metacrilato (Historesina,

Leica Instruments, Heidelberg, Alemanha). Foram realizados cortes transversais a 7µm de espessura em micrótomo rotativo de avanço automático (LEICA RM 2255), do Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Viçosa – Campus Rio Paranaíba (UFV-CRP). Foram confeccionadas 3 lâminas de cada indivíduo com 3 cortes cada, totalizando 27 lâminas e 81 cortes para cada espécie. As lâminas foram coradas em azul de toluidina (O'Brien and McCully, 1981) e montadas com Permout (SP15-500, Fisher Scientific, New Jersey, USA). Para a vista frontal da epiderme utilizou-se a técnica de dissociação epidérmica, seguindo metodologias propostas por Jeffrey (Johansen, 1940; Kraus e Arduin, 1997). Foram confeccionadas uma lâmina de cada indivíduo com dois segmentos cada, totalizando 18 lâminas e 36 segmentos. Em seguida, o material foi corado em Safranina 5%, e as lâminas montadas com gelatina glicerinada e seladas com esmalte incolor.

Das lâminas em cortes transversais, foram mensuradas as espessuras das cutículas das epidermes das faces adaxial e abaxial da folha, das epidermes das faces adaxial e abaxial, do parênquima paliçádico, do parênquima esponjoso, e da espessura total do limbo. Foram determinados a densidade estomática, o número de células epidérmicas, e os diâmetros polares e equatoriais dos estômatos nas lâminas provenientes da dissociação epidérmica. O índice estomático foi calculado conforme a fórmula:

$$IE = \frac{n^{\circ} \text{ de estômatos}}{n^{\circ} \text{ de células epidérmicas} + n^{\circ} \text{ de estômatos}} \times 100$$

As imagens foram analisadas em microscópio Olympus CX31, do Laboratório de Anatomia Vegetal, da UFV-CRP, e as imagens foram digitalizadas em fotomicroscópio Olympus BX 41, do Laboratório de Genética Ecológica e Evolutiva, da UFV-CRP. Para as avaliações micromorfométricas e cálculos de parâmetros estomáticos utilizou-se o programa Anati Quanti (Aguiar et al., 2007).

2.3 Parâmetros ecofisiológicos

Para todos os parâmetros ecofisiológicos analisados, a coleta do material vegetal ocorreu *in situ* no sub-bosque da FES do PEMG, num total de três dias, sendo uma no mês de dezembro de 2016 e duas no mês de março de 2017, em dias com condições meteorológicas semelhantes com céu aberto, utilizando folhas da região mediana da copa que não sofressem autossombreamento. As três coletas ocorreram nos mesmos indivíduos, também utilizados para as coletas anatômicas, sendo nove adultos de *T. elegans* e nove de *T. pallida*. Todas as avaliações no campo e coleta de material para envio para o laboratório ocorreram no período matutino, utilizando-se folhas mais jovens completamente expandidas, que não estavam sofrendo autossombreamento e ramos novos para coleta da seiva do xilema.

Para as análises de pigmentos foram coletadas 0,2g de folha, colocadas em 10ml de acetona com tampão fosfato em campo e mantidas no gelo. Em laboratório foram mantidas por 15 dias em geladeira para extração dos pigmentos pelo tampão. Uma alíquota do tampão foi usada para análise em espectrofotômetro nas absorvâncias de 663nm, 646nm e 470nm, para os cálculos das dosagens dos teores de clorofilas *a*, *b* e carotenoides, respectivamente, e as concentrações dos pigmentos calculadas por meio de equações propostas por Lichtenthaler e Wellburn (1983). Também foram calculadas as razões Clorofila *a/b* e Clorofilas/Carotenoides, além da concentração total de clorofila segundo Lichtenthaler e Wellburn (1983).

Os testes de fluorescência foram realizados a partir da avaliação da fluorescência da clorofila *a* em folhas intactas através de um fluorômetro OS1p (Opti Sciences), permitindo verificar a eficiência máxima do fotossistema II (razão F_v/F_m) e a existência de fotoinibição (Shimizu et al., 2006). Foram feitas duas medidas, às 7h e 12h. As folhas foram adaptadas ao escuro por 15 minutos para a medida das 7h, e por 30 minutos para a medida das 12h, com cliques específicos. A fluorescência basal (F_0) foi medida na face adaxial da folha. Em seguida, a

fluorescência máxima (F_m) foi analisada após o pulso de irradiância saturante e a fluorescência variável (F_v) foi calculada como $F_v = F_m - F_0$. As avaliações, a partir da determinação da razão F_v/F_m , ocorreram de maneira que possibilitasse a observação de fotoinibição nas espécies estudadas.

As análises de trocas gasosas e curva de luz foram realizadas entre 8h e 11h, utilizando um analisador portátil de gás infravermelho (Irga) modelo LICOR 640 XT conectado a uma câmara de 6cm^2 . A partir da elaboração de uma curva de luz e de análises de trocas gasosas, foram determinadas as taxas de fotossíntese líquida (A_{max}), condutância estomática (g_s) e transpiração (E), além da concentração intercelular de CO_2 (C_i), produtividade quântica aparente da assimilação de CO_2 (α) e respiração no escuro (Re). Nas curvas de resposta à luz, a taxa de assimilação (A) é medida em função da densidade de fluxo de fótons fotossinteticamente ativos (DFFFA). As curvas de resposta à luz foram realizadas a partir da mais alta para o menor DFFFA (300, 250, 200, 150, 100, 75, 50, 30, 15, 10, 5, 0 $\mu\text{moles de fótons m}^{-2}\text{s}^{-1}$), e após o registro da curva, os dados foram plotados utilizando no programa SigmaPlot (Systat Software, 2008) e analisados segundo Portes et al. (2010). Foram calculados o Ponto de Compensação Luminoso (PCL) e Ponto de Saturação Luminoso (PSL) a partir das curvas de luz utilizando o programa SigmaPlot (Systat Software, 2008). A eficiência no uso da água (EUA), foi obtida pela razão A/E , a eficiência intrínseca no uso da água ($EIUA$), calculada a partir de A/g_s , e a eficiência instantânea de carboxilação (k), pela razão A/C_i .

Foram realizadas extrações e análise de proteínas e de aminoácidos livres totais, de NO_3^- e de NH_4^+ utilizando segmentos de folhas (0,2g), armazenadas em campo em solução de MCW (metanol: clorofórmio: água, 12:5:3, v/v/v), e mantidas na geladeira por 14 dias, para infiltração da solução no tecido vegetal. As amostras então foram maceradas em N_2 líquido e MCW e, após 24h, foram centrifugadas por 30 minutos a $1250\times g$. O sobrenadante e o resíduo foram separados. Foram adicionados 1 volume de clorofórmio e 1,5 volume de água para cada

4 volumes de sobrenadante obtido. A fase aquosa foi coletada após 24h e mantida por 5 dias a 37°C para a concentração da amostra, antes de ser congelada. Proteínas foram extraídas a partir do resíduo resultante da extração com MCW, após tratamento por 24h com NaOH 0,1M.

Foram coletadas amostras de seiva do xilema a partir de galhos desfolhados utilizando uma bomba de vácuo de mão (Pate et al., 1994). A seiva coletada foi congelada até ser utilizada para as análises de NO_3^- e NH_4^+ , aminoácidos livres totais.

Utilizando da fase aquosa obtida a partir da extração dos segmentos de folhas e da seiva do xilema, foram dosados NO_3^- , NH_4^+ e aminoácidos livres totais. O NO_3^- foi determinado através da sua redução a NO_2^- pelo catalisador cloreto de vanádio (VCl_3 0,4% em HCl 0,5N). NO_2^- resultante foi detectado pelo reagente de Griess (sulfanilamida 1% em HCl 1,5N seguida da adição de N-naftiletilenodiamina 0,02%) e detectado por espectrofotometria a 540nm (Miranda et al., 2001). O NH_4^+ foi determinado pela reação de Berthelot com o reagente 1 (fenol 1% e nitroprussiato de sódio 0,2mM) e com o reagente 2 (NaOH 125mM, Na_2HPO_4 150mM e NaClO 0,12%). Após a reação de 35min a 37°C, o conteúdo de NH_4^+ foi determinado pela leitura da absorbância a 625nm (McCullough, 1967). O conteúdo de aminoácidos livres totais foi determinado utilizando tampão citrato 0,2M (pH 5), ninhidrina 5% (em metilcelusolve) e KCN 0,01M (em metilcelusolve). Os tubos foram mantidos fechados por 20min a 100°C. Ao final, foi adicionado etanol 60% e a quantificação realizada em absorbância de 570nm (Yemm et al., 1955). O conteúdo de proteínas foi determinado com o reagente Coomassie Brilliant Blue G-250 da Bio-Rad, seguindo as especificações do fabricante (Bradford, 1976).

A atividade da enzima Nitrato Redutase (NR) nas folhas das duas espécies foi determinada *in vivo* (Stewart et al., 1986). Amostras de folhas (0,15g) foram cortadas em pequenos segmentos e transferidas para seringas contendo o meio de reação (K_2HPO_4 0,05M

pH 7,5; propanol 1%; KNO₃ 0,05M). As seringas foram mantidas no escuro a temperatura ambiente sob vácuo (para facilitar a infiltração do meio de reação nos tecidos). Após 40min, uma alíquota do meio foi coletada para a dosagem do NO₂⁻, formado a partir do substrato NO₃⁻, utilizando-se o reagente de Griess. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 540nm (Hageman e Reed, 1980).

Em todas as análises espectrofotométricas, a determinação das absorbâncias foi realizada utilizando-se o leitor de microplacas da Molecular Devices, modelo Spectra Max Plus 384, China.

2.4 Análise estatística

Os dados de todas as variáveis foram submetidos aos testes de normalidade (Shapiro–Wilk) e homogeneidade das variâncias (Levene) e quando necessário, foram transformados em log. Os resultados de anatomia foliar foram submetidos à análise de variância (ANOVA) de um fator. Os resultados de ecofisiologia foram submetidos à ANOVA multifatorial de 3x2 (dias coletados, espécies). Exceção para a análise de fluorescência da clorofila *a* (Fv/Fm), que foi ANOVA multifatorial de 3x2x2 (dias coletados, espécies e horários do dia), seguidas de teste de Tukey para comparação de médias. Para nenhuma análise foi observada diferença entre os dias de coleta, sendo assim não foram apresentadas comparações entre eles. Para a realização dos testes, utilizou-se o programa Statistica, versão 10.0 (StatSoft, 2011), e foi adotado o nível de significância de 5%.

3. Resultados

As folhas de *T. elegans* e *T. pallida* não apresentaram diferenças nas espessuras da cutícula, epiderme adaxial e limbo (Tab. 1). *Trichilia pallida* apresentou maiores espessuras do parênquima paliçádico e da epiderme abaxial, enquanto *T. elegans* apresentou maior espessura

do parênquima esponjoso (Tab. 1). *Trichilia pallida* apresentou maior índice e densidade estomáticos e maiores diâmetros polares e equatoriais do que *T. elegans* (Tab. 2) ou seja, estômatos maiores (Fig. 1A e B). *Trichilia elegans* apresentou na epiderme paredes anticlinais mais sinuosas (Fig. 1A). Não foram observadas, comparando as duas espécies, outras diferenças importantes entre os cortes transversais do limbo, assim como entre as nervuras secundárias para o presente estudo (Fig. 1C-F).

Trichilia elegans apresentou maiores teores de clorofila *b* e razão clorofila/carotenoides (Tab. 3). *Trichilia pallida* apresentou maiores teores de clorofila *a*, carotenoides, clorofilas totais e razão clorofilas *a/b* (Tab. 3).

Tab. 1.

Espessura de variáveis anatómicas de folhas de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida* (média \pm erro padrão). * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; pelo teste F (ANOVA). N=9.

Parâmetro (μm)	Espécies	
	<i>Trichilia elegans</i>	<i>Trichilia pallida</i>
Cutícula adaxial	5,49 \pm 0,209	5,04 \pm 0,391
Epiderme adaxial	17,12 \pm 0,81	17,44 \pm 0,97
Parênquima paliçádico	42,54 \pm 1,15	70,73 \pm 4,39**
Parênquima esponjoso	123,80 \pm 3,77**	99,63 \pm 6,27
Epiderme abaxial	16,54 \pm 0,588	18,51 \pm 0,649*
Cutícula abaxial	5,56 \pm 0,275	4,95 \pm 0,323
Limbo	217,80 \pm 5,25	203,33 \pm 7,79

Tab. 2.

Variáveis estomáticas de folhas de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida* (média \pm erro padrão). ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; pelo teste F (ANOVA). N=9.

Variáveis	Espécies	
	<i>Trichilia elegans</i>	<i>Trichilia pallida</i>
Densidade estomática	246 \pm 13,54	353 \pm 28,5***
Número de células epidérmicas (mm^2)	3138 \pm 115	2950 \pm 159
Índice estomático (%)	6,86 \pm 0,010	10,68 \pm

		0,087***
Diâmetro polar do estômato (μm)	22,28 \pm 0,744	28,22 \pm 0,699**
Diâmetro equatorial do estômato (μm)	20,4 \pm 0,542	26,46 \pm 0,489**

Tab. 3.

Conteúdo de pigmentos fotossintéticos em folhas de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida* (média \pm erro padrão). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$ pelo teste F (ANOVA). N=9.

	Espécies	
	<i>Trichilia elegans</i>	<i>Trichilia pallida</i>
Clorofila <i>a</i> (mg g^{-1})	0,604 \pm 0,114	1,18 \pm 0,183***
Clorofila <i>b</i> (mg g^{-1})	0,204 \pm 0,041*	0,17 \pm 0,051
Carotenoides (mg g^{-1})	0,077 \pm 0,013	0,15 \pm 0,023**
Clorofilas totais (mg g^{-1})	0,808 \pm 0,185	1,36 \pm 0,234**
Razão Clorofilas <i>a/b</i>	3,02 \pm 0,224	6,0 \pm 0,497**
Razão Clorofila/Carotenoides	10,81 \pm 0,768**	8,4 \pm 0,834

Para as duas espécies, foi observado decréscimo no F_v/F_m comparando 7h com 12h. *T. elegans* apresentou maior F_v/F_m do que *T. pallida* para ambos os horários (Fig. 2).

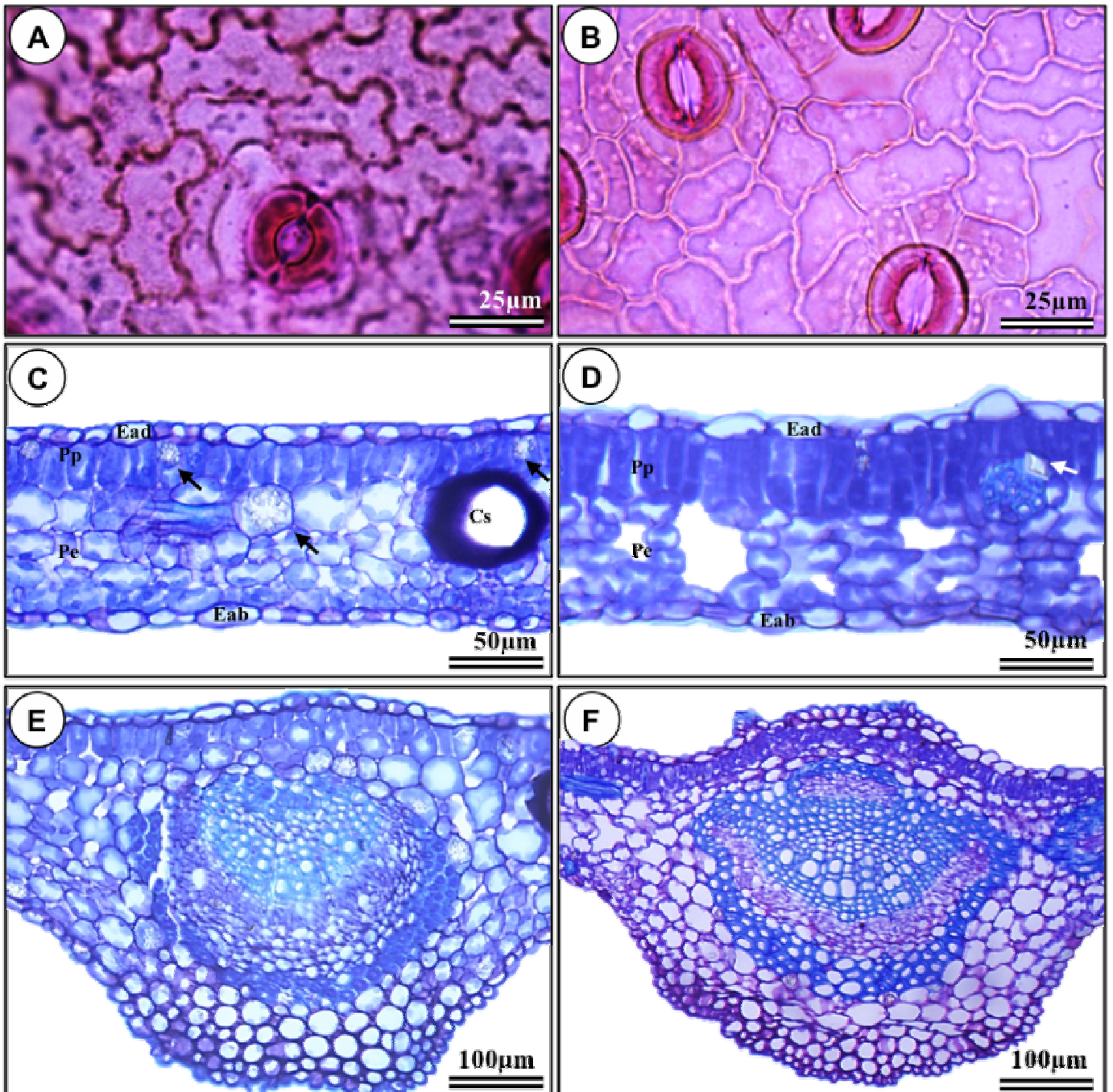


Fig. 1. Anatomia foliar de *Trichilia elegans* (A, C e E) e *Trichilia pallida* (B, D e F). A e B- Epiderme abaxial e estômatos; C e D- Corte transversal do limbo; E e F- Corte transversal da nervura secundária. Ead = epiderme adaxial; Pp = parênquima paliádico; Pe = parênquima esponjoso; Eab = epiderme abaxial; Cs = canal secretor; seta preta = drusas; seta branca = cristal prismático.

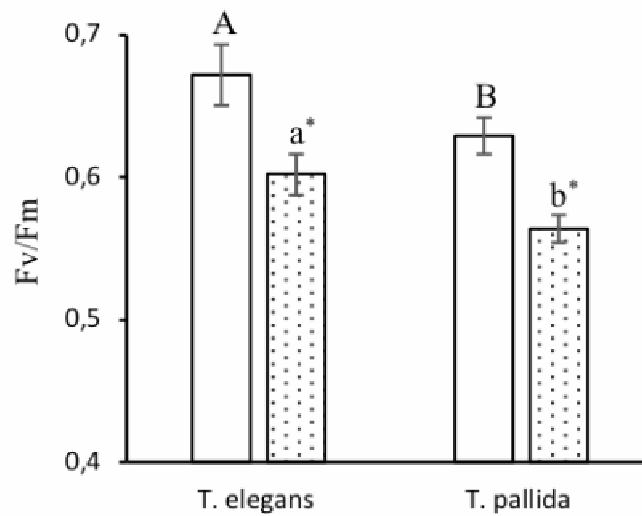


Fig. 2. Atividade máxima do fotossistema II (F_v/F_m) de folhas de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida* às 7h (branco) e 12h (pontilhado). $N=9$. Traço vertical acima das barras representa o erro padrão. Letras maiúsculas acima das barras comparam as espécies às 7 horas. Letras minúsculas acima das barras comparam as espécies às 12 horas. Asterisco indica diferença intraespecífica. $p < 0.05$ teste F (ANOVA).

Comparados com *T. pallida*, *T. elegans* apresentou maiores valores de taxa fotossintética líquida (A_{max}), produtividade quântica aparente (α), eficiência instantânea de carboxilação (k), respiração no escuro (R_e), eficiência do uso da água (EUA) e eficiência intrínseca do uso da água ($EIUA$) (Fig. 3A, C, E, F, G e H).

Trichilia pallida apresentou maiores valores que *T. elegans* para condutância estomática (g_s) e concentração intercelular de CO_2 (C_i) (Fig. 3B e D). Não foi observada diferença no ponto de compensação luminoso (PCL) entre as espécies estudadas (Fig. 3I).

Foi observado maior conteúdo de proteínas totais e de NO_3^- nas folhas de *T. elegans*, enquanto *T. pallida* apresentou maiores teores de aminoácidos livres totais e NH_4^+ nas folhas (Tab. 4). Não foram observadas diferenças nas atividades da enzima Nitrato Redutase entre as espécies (Tab. 4).

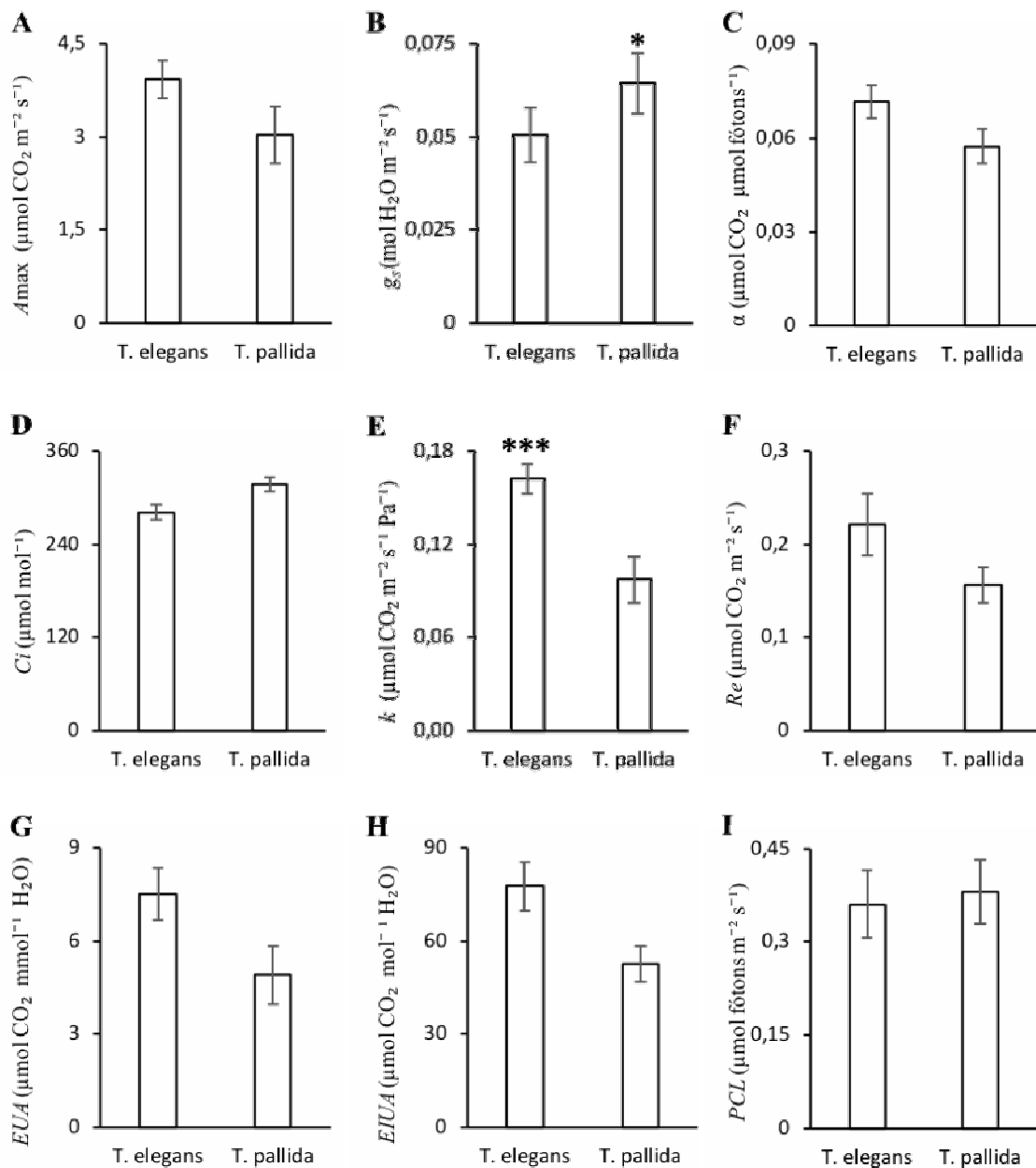


Fig. 3. Atributos fisiológicos de folhas de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida*. A - Taxa fotossintética líquida (A_{max}); B - Condutância estomática (g_s); C - Produtividade quântica aparente da assimilação de CO_2 (α); D - Concentração intercelular de CO_2 (C_i); E- Eficiência instantânea de carboxilação (k); F- Respiração no Escuro (Re); G- Eficiência do uso da água (EUA); H- Eficiência intrínseca do uso da água ($EIUA$); I - Ponto de compensação luminoso (PCL). N=9. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$ pelo teste F (ANOVA). Traço vertical acima das barras representa o erro padrão.

Foi observado para *T. elegans* que aproximadamente 70% dos compostos nitrogenados da seiva do xilema foi composta por aminoácidos, 25% de NO_3^- e 5% de NH_4^+ . Para *T. pallida*, foi observado que cerca de 62% da seiva foi composta por aminoácidos, 30% de NO_3^- e 8% de NH_4^+ (Fig. 5A). Em valores absolutos a seiva do xilema de *T. elegans*

apresentou maior conteúdo de aminoácidos livres totais, *T. pallida* apresentou maior conteúdo de NO_3^- , e não foram encontradas diferenças nos conteúdos de NH_4^+ (Fig. 5B).

Tab. 4. Conteúdo de proteínas, aminoácidos livres totais, NO_3^- e NH_4^+ em folhas de indivíduos de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida* (média \pm erro padrão). *** $p < 0.001$ pelo teste F (ANOVA). N=9.

Variáveis	Espécies	
	<i>Trichilia elegans</i>	<i>Trichilia pallida</i>
Proteínas totais (mg g^{-1})	3,08 \pm 0,104***	2,73 \pm 0,115
Aminoácidos livres totais ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	7,69 \pm 0,662	12,44 \pm 0,671***
NO_3^- ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	16,62 \pm 0,427***	0,187 \pm 0,015
NH_4^+ ($\mu\text{mol g}^{-1}$)	0,353 \pm 0,031	0,795 \pm 0,039***
Nitrato Redutase ($\text{nmol g}^{-1}\text{min}^{-1}$)	8,77 \pm 0,196	8,95 \pm 0,3

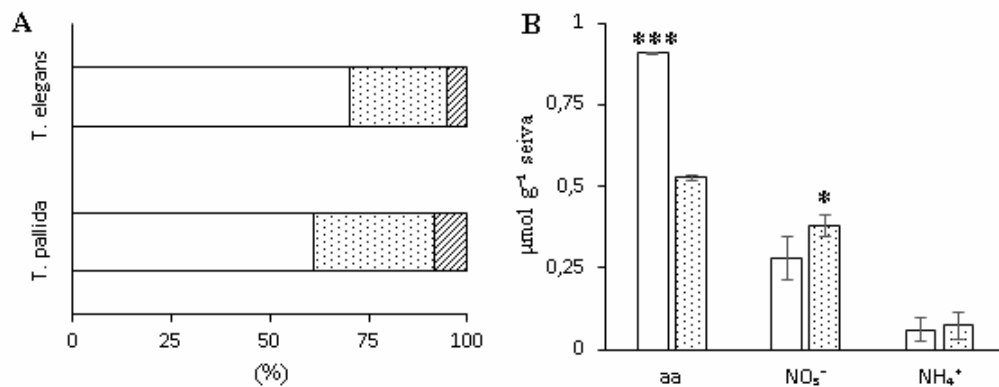


Fig. 4. Conteúdo de aminoácidos livres totais, NO_3^- e NH_4^+ na seiva do xilema de indivíduos adultos de *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida*. A- Porcentagem de aminoácidos (branco), NO_3^- (pontilhado) e NH_4^+ (hachurado). B- Valores absolutos do conteúdo de aminoácidos, NO_3^- e NH_4^+ de *T. elegans* (branco) e *T. pallida* (pontilhado). N=9. * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$ pelo teste F (ANOVA). Traço vertical acima das barras na figura B representa o erro padrão.

4. Discussão

Embora *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida* sejam duas espécies tolerantes à sombra encontradas no sub-bosque da FES do PEMG, foram observadas variações anatômicas e ecofisiológicas entre elas. Estas diferenças podem contribuir na explicação da coexistência destas espécies do gênero *Trichilia*, explorando diferentes nichos, com *T. pallida* obtendo maior sucesso em locais mais iluminados em relação a *T. elegans* (Hertel, 2014).

4.1 Anatomia foliar

O desenvolvimento do parênquima paliçádico e maior do parênquima esponjoso em *Trichilia elegans*, espécie encontrada em locais menos iluminados no sub-bosque da FES do PEMG, são esperadas, visto que os desenvolvimentos em proporções diferentes destes parênquimas são influenciados por estímulos luminosos (Gratani, 2014). O maior desenvolvimento do parênquima esponjoso nesta espécie pode estar relacionado às suas necessidades bioquímicas que envolvem atender a demanda energética e a maior captação de luz, como já sugerido em estudos comparando folhas de locais mais e menos iluminados (Terashima et al., 2011; Dias-Pereira et al., 2013). As células irregulares do parênquima esponjoso e a disposição destas no tecido foliar possibilitam a formação de maiores espaços intercelulares. Isso proporciona uma superfície de refração e reflexão da luz difusa, maximizando o aproveitamento desta por espécies de locais mais sombreados (Terashima et al., 2009, 2011).

Em vista frontal, a sinuosidade mais acentuada das paredes anticlinais das células epidérmicas observadas em *T. elegans*, em comparação com *T. pallida*, também pode estar associada diretamente com características de plantas de ambientes mais sombreados por proporcionar maior convexidade da superfície superior das células epidérmicas, possibilitando melhor captação e convergência de luz para o mesofilo (Xiao et al., 2016; Earles et al., 2017).

Parênquima paliçádico e epiderme abaxial mais desenvolvidos foram apresentados por *T. pallida*. O parênquima paliçádico com maior desenvolvimento facilita a passagem de luz através da folha, direcionando os feixes de luz pelas células cilíndricas e alongadas, diminuindo a possibilidade de altos níveis de fotoinibição (Terashima et al., 2011; Melo Júnior et al., 2017). *Trichilia pallida* apresentou maiores densidade e índice estomático, bem como tamanho dos estômatos. Plantas que se desenvolvem em locais mais iluminados podem apresentar aumento do tamanho estomático e na quantidade de estômatos para facilitar a

difusão de CO₂ para o mesofilo (Allard et al., 1991; Terashima et al., 2011; Tholen e Zhu, 2011). Estas características possibilitam menor fotorrespiração e maior gasto de ATP e NADPH pelo ciclo de Calvin, dificultando processos fotoinibitórios (Hochberg et al., 2013; Zhang et al., 2016).

Foram encontradas drusas no mesofilo de *T. elegans* e cristais prismáticos de oxalato de cálcio no mesofilo de *T. pallida*. Em plantas de sub-bosque estas estruturas auxiliam na prevenção de herbivoria, armazenam cálcio e refletem a luz que recebem, auxiliando na fotossíntese (Franceschi e Nakata, 2005). *Trichilia elegans* e *Trichilia pallida* apresentaram também semelhanças na estrutura anatômica das folhas, como as espessuras das cutículas adaxiais e abaxiais, da epiderme adaxial e do limbo, o que está de acordo com os fatos de serem típicas de sub-bosque, pertencerem ao mesmo gênero e habitarem o mesmo sub-bosque.

4.2 Pigmentos e fluorescência da Clorofila *a*

Foi observado que *T. elegans* apresentou maior teor de clorofila *b*, e menor razão clorofila *a/b* sendo possível inferir que, por habitar locais com menor disponibilidade de luz que *T. pallida*, otimize a captação de luz vermelha no sub-bosque (Jespersen et al., 2017). A clorofila *b* é parte essencial e integrante dos complexos antenas (LHCs), além de estar presentes em maior abundância na LHCI do PSII, sugerindo que altas proporções da mesma são associadas a plantas de ambientes mais sombreados, facilitando a captação e concentração da energia luminosa (Lichtenthaler e Wellburn, 1983; Buschmann, 2007; Lichtenthaler et al., 2007; Lichtenthaler e Babani, 2004; Terashima et al., 2009).

A baixa razão Clorofila *a/b* indica maior investimento em LHCs por *Trichilia elegans*, típicas de cloroplastos de folhas de ambientes com alto sombreamento (Evans, 1988). Além disso, comparada com *T. pallida*, pode-se sugerir que devido a possível maior quantidade de LHCI em *T. elegans*, mesmo em condições de baixa luminosidade no sub-bosque, pode

facilitar na fosforilação das treoninas da superfície do LHCII pela proteína-quinase que existe nos tilacóides. Isto possibilitaria maior migração deste complexo antena que repassará mais energia para o FSI, conforme explicitado em estudos sobre mecanismos de estados de transição fotossintético (Haldrup et al., 2001; Finazzi, 2004).

Em *T. pallida*, foram encontrados altos teores de clorofila *a*, carotenóides e clorofilas totais, e menor razão clorofila/carotenoide, sugerindo além de aproveitamento da luz para fotossíntese, indícios de importantes mecanismos fotoprotetores relacionados com funções dos pigmentos acessórios que também protegem as plantas de danos causados por excesso de luz (Lichtenthaler et al., 2007). Estes resultados estão de acordo com a adaptação de *T. pallida* em locais menos sombreados em relação a *T. elegans*.

Pode-se sugerir que, com o declínio do F_v/F_m ao meio dia, as duas espécies estudadas apresentam fotoinibição dinâmica, conforme já foram enfatizados em outros estudos (Araújo e Deminicis, 2009). Foi observado em *T. elegans* maior eficiência quântica máxima do PSII (F_v/F_m) que *T. pallida* em ambos os horários. *T. pallida* por habitar locais mais iluminados do sub-bosque quando comparadas com *T. elegans*, está mais sujeita ao estresse causado pelo excesso de luz.

4.3 Trocas gasosas

Comparada com *T. pallida*, *T. elegans* apresentou maiores valores de A_{max} , α e k , sugerindo elevada eficiência no uso da luz. Foi observado também em *T. elegans* maiores *EUA* e *EIUA*. Plantas de locais menos iluminados que apresentam menos estômatos, menor índice estomático e estômatos menores, têm maiores *EUA* e *EIUA* (Ashton e Berlyn, 1992; Santiago et al., 2001; Sabbi et al., 2010; Melo Júnior et al., 2017). *Trichilia elegans* apresentou estas características sem que isto tenha decrescido sua A_{max} , que foi superior a *T. pallida*. A maior A_{max} observada

em *T. elegans* é possível por esta espécie apresentar maior eficiência no uso da luz e maior eficiência instantânea de carboxilação.

Visto que *T. elegans* se encontra em locais muito sombreados no interior da floresta, pode-se sugerir que o período diário fotossinteticamente ativo desta espécie seja mais curto, de forma que ela apresenta maior eficiência fotossintética como estratégia de compensação. A disponibilidade de luz sofre muita variação no sub-bosque florestal e aumentos rápidos na intensidade de luz podem ocorrer (*sunflex*), as espécies devem ser capazes de lidar com esta heterogeneidade ambiental (Valladares e Niinemets, 2008). Considerando os resultados de A_{max} , α e k é possível sugerir também que *T. elegans* tenha maior capacidade de aproveitamento da luz em função da variação de luminosidade a que o sub-bosque está exposto em razão de *sunflex*.

Trichilia pallida apresentou g_s e C_i maiores que *T. elegans*. Maiores valores na condutância estomática associados com alta concentração intercelular de CO_2 estão mais relacionadas com espécies de locais mais iluminados, pois são características que dificultam processos fotoinibitórios (Terashima et al., 2011; Bielczynski et al., 2017). Estas características podem ser facilitadas em *T. pallida* por apresentarem maior índice estomático com estômatos maiores, provocando redução da resistência de difusão do gás carbônico (Hanba et al., 2002; Warren et al., 2007), proporcionando um aumento da C_i (Machado et al., 2005; Albuquerque et al., 2013), mesmo que isso tenha ocorrido às custas da redução da *EUA* e *EIUA*.

Os baixos valores de *PCL* observados nas duas espécies está de acordo com o fato delas serem características de sub-bosque, tolerantes a sombra e habitarem locais com diferenças na disponibilidade luminosa não tão proeminentes. Espécie com esta característica tem maior sucesso para se estabelecer em locais mais sombreados (Kluge et al., 2015; Oguchi et al., 2017).

4.4 Metabolismo do nitrogênio

Trichilia elegans apresentou maiores teores de proteínas e NO_3^- nas folhas e de aminoácidos livres totais na seiva do xilema, quando comparada com *T. pallida*. No entanto as duas espécies não apresentaram diferenças na atividade da enzima nitrato redutase nas folhas. Maiores níveis relativos e absolutos de aminoácidos livres totais na seiva indicam que *T. elegans*, que habita locais menos iluminados, apresenta maior assimilação de nitrogênio nas raízes e translocação de nitrogênio assimilado via xilema para a parte aérea em relação a *T. pallida*. O maior valor no conteúdo de proteínas nas folhas está de acordo com a observação de valor superior de k em *T. elegans*, sugerindo maior investimento em Rubisco (Ribulose-1,5-bisfosfato carboxilase/oxigenase) e outras enzimas do ciclo de Calvin, como já observado em diferentes estudos (Millard e Grelet, 2010; Carmo-Silva et al., 2015).

Níveis importantes de assimilação do nitrogênio nas raízes já foram sugeridos e encontrados em diferentes estudos com espécies tolerantes à sombra (Aidar et al., 2003; Oliveira e Sodek, 2013; Oliveira et al., 2013, 2017; Calzavara et al., 2017). A sugestão de haver maiores níveis de assimilação de nitrogênio nas raízes de *T. elegans* em relação a *T. pallida* é suportada pelo fato desta espécie apresentar, proporcionalmente, maior porcentagem de aminoácidos livres totais na seiva do xilema. Além disso, é possível supor que o não favorecimento na assimilação de nitrogênio nas folhas de *T. elegans* facilita um acúmulo de NO_3^- nesse órgão, como foi observado nesta espécie, visto que este ânion é pouco retranslocado pelo floema, de volta às raízes (O'Brien et al., 2016). O acúmulo de nitrato também pode ser importante como mecanismo de ajuste osmótico (Ali e Golombek, 2016; Gao et al., 2016; Zahoor et al., 2017).

Nas folhas de *T. pallida* foram encontradas quantidades superiores de aminoácidos livres totais e NH_4^+ e maior quantidade relativa de nitrato e amônio na seiva do

xilema em comparação com *T. elegans*. Esses resultados sugerem que *T. pallida* deve apresentar maiores níveis de assimilação de N na parte aérea se comparada com *T. elegans*. Considerando que *T. pallida* ocorre em locais mais iluminados, a assimilação de nitrogênio nas folhas é favorável. Com a maior disponibilidade de luz ocorrerá maior atividade da etapa fotoquímica da fotossíntese, com maior produção de ATP e NADPH que poderão ser usados também na assimilação do nitrogênio. Esses mecanismos auxiliarão na dissipação de energia, que em excesso pode ser danosa aos fotossistemas (Britto e Kronzucker, 2002; Guo et al., 2007; Keren e Krieger-Liszkay, 2011; Shao et al., 2014).

Os resultados observados neste estudo com *T. elegans* e *T. pallida*, em certa medida estão de acordo com o gradiente proposto por Aidar et al. (2003). Estes autores sugeriram que, com o decréscimo na disponibilidade de luz, as espécies tendem a aumentar a assimilação de nitrogênio nas raízes e diminuir nas folhas.

5. Conclusão

Além de explorar habitats com diferentes luminosidades (Hertel, 2014) e apresentar diferenças fenológicas (Perina, 2011) importantes para explicar a ocorrência de *T. elegans* e *T. pallida* no sub-bosque da FES do PEMG, elas apresentam também diferenças anatômicas e ecofisiológicas que contribuem para sua coexistência no sub-bosque da floresta.

Para o sucesso em locais menos iluminados do sub-bosque, *T. elegans* apresentou parênquima esponjoso mais desenvolvido, maior teor de clorofila *b* e indícios de maior assimilação do nitrogênio nas raízes em comparação com *T. pallida*. Enquanto, *T. pallida* apresentou parênquima paliádico mais desenvolvido, maiores teores de carotenóides, associados a um metabolismo fotossintético melhor preparado para fotoproteção e indícios de maior assimilação do nitrogênio nas folhas em relação a *T. elegans*.

Estes resultados possibilitam afirmar que diferenças anatômicas e ecofisiológicas são importantes para que *T. elegans* e *T. pallida* permaneçam coexistindo no sub-bosque da FES do PEMG, com características próprias que conferem o sucesso nos seus respectivos nichos. Além disso, com este estudo foi possível observar que existem algumas diferenças, e sugerir que possivelmente existam várias outras diferenças ~~não analisadas por este estudo~~ entre espécies que ocupam o mesmo estrato florestal, que são importantes para o entendimento detalhado de suas respectivas adaptações ao ambiente semelhante. Estas observações são úteis para que plantas de um mesmo grupo ecológico não sejam tratadas de uma mesma forma, quando houver algum interesse de manejo, por exemplo, em casos de regeneração florestal.

6. Agradecimentos

Ao Programa de Pesquisa Ecológica de Longa Duração (PELD), processo 441540/2016-3 (CNPq/CAPES/FAPR/BC-FUNDO NEWTON). A Capes pela concessão da bolsa.

7. Referências bibliográficas

- Aguiar, T.V., Sant'Anna-Santos, B.F., Azevedo, A.A., Ferreira, R.S., 2007. Anati Quanti: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. *Planta Daninha* 25, 649–659.
- Aiba, M., Nakashizuka, T., 2009. Architectural differences associated with adult stature and wood density in 30 temperate tree species. *Funct. Ecol.* 23, 265–273.
- Aidar, M.P.M., Schmidt, S., Moss, G., Stewart, G.R., Joly, C.A., 2003. Nitrogen use strategies of neotropical rainforest trees in threatened Atlantic Forest. *Plant, Cell Environ.* 26, 389–399.
- Albuquerque, M.P.F., Moraes, F.K.C., Santos, R.I.N., Castro, G.L.S., Ramos, E.M.L.S., Pinheiro, H.A., 2013. Ecofisiologia de plantas jovens de mogno-africano submetidas a déficit hídrico e reidratação. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 48, 9–16.
- Ali, Z.I., Golombek, S.D., 2016. Effect of drought and nitrogen availability on osmotic adjustment of five pearl millet cultivars in the vegetative growth stage. *J. Agron. Crop Sci.* 202, 433–444.
- Allard, G., Nelson, C.J., Pallardy, S.G., 1991. Shade effects on growth of tall fescue: I. Leaf

- anatomy and dry matter partitioning. *Crop Sci.* 31, 163.
- Araújo, S.A.C., Deminicis, B.B., 2009. Fotoinibição da fotossíntese. *Rev. Bras. Biociências* 7, 463–472.
- Ashton, P.M.S., Berlyn, G.P., 1992. Leaf adaptations of some *Shorea* species to sun and shade. *New Phytol.* 121, 587–596.
- Bianchini, E., Popolo, R.S., Dias, M.C., Pimenta, J.A., 2003. Diversidade e estrutura de espécies arbóreas em área alagável do município de Londrina, sul do Brasil. *Acta bot. bras.* 17, 405–419.
- Bielczynski, L.W., Łacki, M.K., Hoefnagels, I., Gambin, A., Croce, R., 2017. Leaf and plant age affects photosynthetic performance and photoprotective capacity. *Plant Physiol.* 175,
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.
- Britto, D.T., Kronzucker, H.J., 2002. NH_4^+ toxicity in higher plants: a critical review. *J. Plant Physiol.* 159, 567–584.
- Britto, D.T., Kronzucker, H.J., 2013. Ecological significance and complexity of N-source preference in plants. *Ann. Bot.* 112, 957–963.
- Buschmann, C., 2007. Variability and application of the chlorophyll fluorescence emission ratio red/far-red of leaves. *Photosynth. Res.* 92, 261–271.
- Calzavara, A.K., Rocha, J.S., Lourenço, G., Sanada, K., Medri, C., Bianchini, E., Pimenta, J.A., Stolf-Moreira, R., Oliveira, H.C., 2017. Acclimation responses to high light by *Guazuma ulmifolia* Lam. (Malvaceae) leaves at different stages of development. *Plant Biol.* 19, 720–727.
- Carmo-Silva, E., Scales, J.C., Madgwick, P.J., Parry, M.A.J., 2015. Optimizing Rubisco and its regulation for greater resource use efficiency. *Plant. Cell Environ.* 38, 1817–1832.
- Cavender-Bares, J., Ackerly, D.D., Baum, D.A., Bazzaz, F.A., 2004. Phylogenetic overdispersion in Floridian oak communities. *Am. Nat.* 163, 823–43.
- Chagas, R.K., Durigan, G., Contieri, W.A., Saito, M., 2004. Crescimento diametral de espécies arbóreas em floresta estacional eemidecidual ao longo de seis Anos. In: Boas, O.V., Durigan, G. (Eds.), *Pesquisas em conservação e recuperação ambiental no oeste paulista. Páginas e Letras*, São Paulo, pp. 265–289.
- Chazdon, R.L., Pearcy, R.W., Lee, D.W., Fetcher, N., 1996. Photosynthetic responses of tropical forest plants to contrasting light environments. In: Chazdon, R.L., Mulkey, S.S., & Smith, A.P. *Tropical Forest Plant Ecophysiology*. Springer, Boston, MA, pp. 5–55.
- Chiamolera, L.D.B., Ângelo, A.C., Boeger, M.R., Araújo, F.C., 2011. Aspectos anatômicos e fisiológicos de folhas de *Mimosa scabrella* de áreas com diferentes graus de sucessão. *Rev. Floresta* 41, 435–450.

- Collier, M.H., Boughter, S.A., Dameron, M.P., Gribbins, K.M., Keane, B., Shann, J.R., Rogstad, S.H., 2017. Uptake and distribution of copper, lead, and zinc in dandelions (*Taraxacum officinale*; Asteraceae) sampled from polluted and nonpolluted soils. *J. Torrey Bot. Soc.* 144, 47–57.
- Dechorgnat, J., Nguyen, C.T., Armengaud, P., Jossier, M., Diatloff, E., Filleur, S., Daniel-Vedele, F., 2011. From the soil to the seeds: the long journey of nitrate in plants. *J. Exp. Bot.* 62, 1349–1359.
- Dias-Pereira, J., Pimenta, J.A., Medri, M.E., Stolf-Moreira, R., 2013. Avaliações morfológicas e micromorfométricas de folhas de sol e de sombra de *Lithraea molleoides* (Vell.) Engl. (Anacardiaceae). *Ev. Conserv. Biod.* 4, 22–31.
- Earles, J.M., Thérroux-Rancourt, G., Gilbert, M.E., McElrone, A.J., Brodersen, C.R., 2017. Excess diffuse light absorption in upper mesophyll limits CO₂ drawdown and depresses photosynthesis. *Plant Physiol.* 174, 1082–1096.
- Evans, J., 1988. Acclimation by the thylakoid membranes to growth irradiance and the partitioning of nitrogen between soluble and thylakoid proteins. *Aust. J. Plant Physiol.* 15, 93–106.
- Finazzi, G., 2004. The central role of the green alga *Chlamydomonas reinhardtii* in revealing the mechanism of state transitions. *J. Exp. Bot.* 56, 383–388.
- Force, L., Critchley, C., van Rensen, J.J.S., 2003. New fluorescence parameters for monitoring photosynthesis in plants. *Photosynth. Res.* 78, 17–33.
- Franceschi, V. R., & Nakata, P. A., 2005. Calcium oxalate in plants: formation and function. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 56, 41-71.
- Gao, Q., Jia, S., Miao, Y., Lu, X., Li, H., 2016. Effects of exogenous melatonin on nitrogen metabolism and osmotic adjustment substances of melon seedlings under sub-low temperature. *J. Appl. Ecol.* 27, 519–524.
- Gommers, C.M.M., Visser, E.J.W., Onge, K.R.S., Voesenek, L.A.C.J., Pierik, R., 2013. Shade tolerance: when growing tall is not an option. *Trends Plant Sci.* 18, 65–71. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2012.09.008>
- Gratani, L., 2014. Plant Phenotypic Plasticity in Response to Environmental Factors. *Adv. Bot.* 2014, 1–17.
- Guo, S., Zhou, Y., Gao, Y., Li, Y., Shen, Q., 2007. New insights into the nitrogen form effect on photosynthesis and photorespiration. *Pedosphere* 17, 601–610.
- Haddad, N.M., Brudvig, L.A., Clobert, J., Davies, K.F., Gonzalez, A., Holt, R.D., Lovejoy, T.E., Sexton, J.O., Austin, M.P., Collins, C.D., Cook, W.M., Damschen, E.I., Ewers, R.M., Foster, B.L., Jenkins, C.N., King, A.J., Laurance, W.F., Levey, D.J., Margules, C.R., Melbourne, B.A., Nicholls, A.O., Orrock, J.L., Song, D.-X., Townshend, J.R., 2015. Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Sci. Adv.* 1, e1500052–e1500052.

- Hageman, R.H., Reed, A.J., 1980. Nitrate reductase from higher plants. *Methods Enzymol.* 69, 270–280.
- Haldrup, A., Jensen, P.E., Lunde, C., Scheller, H.V., 2001. Balance of power: a view of the mechanism of photosynthetic state transitions. *Trends Plant Sci.* 6, 301–305.
- Hanba, Y.T., Kogami, H., Terashima, I., 2002. The effect of growth irradiance on leaf anatomy and photosynthesis in *Acer* species differing in light demand. *Plant, Cell Environ.* 25, 1021–1030.
- Hertel, M.F., 2014. Arquitetura de espécies de sub-bosque de Meliaceae em Floresta Estacional Semidecidual Submontana do Sul do Brasil. Dissertação. (Mestrado em Ciências Biológicas). UEL - Universidade Estadual de Londrina.
- Hochberg, U., Degu, A., Fait, A., Rachmilevitch, S., 2013. Near isohydric grapevine cultivar displays higher photosynthetic efficiency and photorespiration rates under drought stress as compared with near anisohydric grapevine cultivar. *Physiol. Plant.* 147, 443–452.
- Jespersen, E., Brix, H., Sorrell, B.K., 2017. Acclimation to light and avoidance of photoinhibition in *Typha latifolia* is associated with high photosynthetic capacity and xanthophyll pigment content. *Funct. Plant Biol.* 44, 774.
- Johansen, D.A., 1940. *Plant microtechnique.* 523.
- Kattge, J., Knorr, W., Raddatz, T., Wirth, C., 2009. Quantifying photosynthetic capacity and its relationship to leaf nitrogen content for global-scale terrestrial biosphere models. *Glob. Chang. Biol.* 15, 976–991.
- Keren, N., Krieger-Liszkay, A., 2011. Photoinhibition: molecular mechanisms and physiological significance. *Physiol. Plant.* 142, 1–5.
- Klein, R.M., 1984. *Flora Ilustrada Catarinense: Meliaceas.* Herbario “Barbosa Rodrigues”. Itajaí.
- Kluge, R.A., Tezotto-Uliana, J. V., Silva, P.P.M., 2015. Physiological and environmental aspects of photosynthesis. *Rev. Virtual Química* 7, 56–73.
- Kraiser, T., Gras, D.E., Gutierrez, A.G., Gonzalez, B., Gutierrez, R.A., 2011. A holistic view of nitrogen acquisition in plants. *J. Exp. Bot.* 62, 1455–1466.
- Kraus, J.E., Arduin, M., 1997. *Manual básico de métodos em morfologia vegetal.*, 1 ed. Editora Universidade Rural, Seropedica, Rio de Janeiro.
- Kusano, M., Fukushima, A., Redestig, H., Saito, K., 2011. Metabolomic approaches toward understanding nitrogen metabolism in plants. *J. Exp. Bot.* 62, 1439–1453.
- Lichtenthaler, H.K., Wellburn, A.R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 11, 591–592. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>
- Lichtenthaler, H.K., Babani, F., 2004. Light adaptation and senescence of the photosynthetic apparatus. Changes in Pigment composition, chlorophyll fluorescence parameters and

- photosynthetic activity. In: Papageorgiou, G. C. (Ed.). *Chlorophyll a fluorescence: a signature of photosynthesis* (Vol. 19). Springer Science & Business Media. pp. 713–736.
- Lichtenthaler, H.K., Ač, A., Marek, M. V., Kalina, J., Urban, O., 2007. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *Plant Physiol. Biochem.* 45, 577–588.
- Loreto, F., Tsonev, T., Centritto, M., 2009. The impact of blue light on leaf mesophyll conductance. *J. Exp. Bot.* 60, 2283–2290.
- Machado, E.C., Schmidt, P.T., Medina, C.L., Ribeiro, R.V., 2005. Respostas da fotossíntese de três espécies de citros a fatores ambientais. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 40, 1161–1170.
- Mahamane, M., Zorrilla-Miras, P., Verweij, P., Ryan, C., Patenaude, G., Grundy, I., Nhantumbo, I., Metzger, M.J., Ribeiro, N., Baumert, S., Vollmer, F., 2017. Understanding land use, land cover and woodland-based ecosystem services change, Mabalane, Mozambique. *Energy Environ. Res.* 7(1), 1.
- McCullough, H., 1967. The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method. *Clin. Chim. Acta* 17, 297–304.
- Melo Júnior, J.C.F., Silva, M.M., Amorim, M.W., Tussolini, E.G.R., 2017. Adaptações estruturais de sete espécies ciófitas arbustivas de Floresta Ombrófila Densa. *Hoehnea* 44, 193–201.
- Metzger, J.P., 2009. Conservation issues in the Brazilian Atlantic forest. *Biol. Conserv.* 142, 1138–1140.
- Millard, P., Grelet, G., 2010. Nitrogen storage and remobilization by trees: ecophysiological relevance in a changing world. *Tree Physiol.* 30, 1083–1095.
- Miller, A.J., Cramer, M.D., 2004. Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant and Soil*, 274(1-2), 1-36.
- Miranda, K.M., Espey, M.G., Wink, D.A., 2001. A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite. *Nitric Oxide* 5, 62–71.
- Mörsdorf, M.A., Ravolainen, V.T., Støvern, L.E., Yoccoz, N.G., Jónsdóttir, I.S., Bråthen, K.A., 2015. Definition of sampling units begets conclusions in ecology: the case of habitats for plant communities. *PeerJ* 3, e815.
- O'Brien, J.A., Vega, A., Bouguyon, E., Krouk, G., Gojon, A., Coruzzi, G., Gutiérrez, R.A., 2016. Nitrate transport, sensing, and responses in plants. *Mol. Plant* 9, 837–856.
- O'Brien, T., McCully, M., 1981. *The study of plant structure: principles and selected methods*. Termarcarphi, Melbourne.
- Oguchi, R., Hiura, T., Hikosaka, K., 2017. The effect of interspecific variation in photosynthetic plasticity on 4-year growth rate and 8-year survival of understorey tree seedlings in response to gap formations in a cool-temperate deciduous forest. *Tree Physiol.* 37, 1113–1127.

- Oliveira, H.C., Freschi, L., Sodek, L., 2013. Nitrogen metabolism and translocation in soybean plants subjected to root oxygen deficiency. *Plant Physiol. Biochem.* 66, 141–149.
- Oliveira, H.C., Sodek, L., 2013. Effect of oxygen deficiency on nitrogen assimilation and amino acid metabolism of soybean root segments. *Amino Acids* 44, 743–755.
- Oliveira, H.C., Silva, L.M.I., Freitas, L.D., Debiassi, T.V., Marchiori, N.M., Aidar, M.P.M., Bianchini, E., Pimenta, J.A., Stolf-Moreira, R., 2017. Nitrogen use strategies of seedlings from neotropical tree species of distinct successional groups. *Plant Physiol. Biochem.* 114, 119–127.
- Osunkoya, O.O., Omar-Ali, K., Amit, N., Dayan, J., Daud, D.S., Sheng, T.K., 2007. Comparative height crown allometry and mechanical design in 22 tree species of Kuala Belalong rainforest, Brunei, Borneo. *Am. J. Bot.* 94, 1951–1962.
- Panda, D., Sharma, S.G., Sarkar, R.K., 2008. Chlorophyll fluorescence parameters, CO₂ photosynthetic rate and regeneration capacity as a result of complete submergence and subsequent re-emergence in rice (*Oryza sativa* L.). *Aquat. Bot.* 88, 127–133.
- Panda, R.M., Behera, M.D., Roy, P.S., Biradar, C., 2017. Energy determines broad pattern of plant distribution in Western Himalaya. *Ecol. Evol.* 7, 10850–10860.
- Pate, J.S., Woodall, G., Jeschke, W.D., Stewart, G.R., 1994. Root xylem transport of amino acids in the root hemiparasitic shrub *Oxalophyllanthi* (Labill) R.Br. (Olacaceae) and its multiple hosts. *Plant. Cell Environ.* 17, 1263–1273.
- Patrício, P.C., Cervi, A.C., 2005. O gênero *Trichilia* P.Browne (Meliaceae) no estado do Paraná, Brasil. *Acta Biológica Parana.* 34, 27-71.
- Perina, B.B., 2011. Fenologia de espécies arbóreas de uma floresta estacional semidecidual do Sul do Brasil. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). UEL- Universidade Estadual de Londrina.
- Pierik, R., de Wit, M., 2014. Shade avoidance: phytochrome signalling and other aboveground neighbour detection cues. *J. Exp. Bot.* 65, 2815–2824.
- Portes, M., Damineli, D., Ribeiro, R., Monteiro, J., Souza, G., 2010. Evidence of higher photosynthetic plasticity in the early successional *Guazuma ulmifolia* Lam. compared to the late successional *Hymenaea courbaril* L. grown in contrasting light environments. *Braz. J. Biol.* 70, 75–83.
- Reddy, C.S., Sreelekshmi, S., Jha, C.S., Dadhwal, V.K., 2013. National assessment of forest fragmentation in India: landscape indices as measures of the effects of fragmentation and forest cover change. *Ecol. Eng.* 60, 453–464.
- Reich, P.B., Ellsworth, D.S., Uhl, C., 1995. Leaf carbon and nutrient assimilation and conservation in species of differing successional status in an oligotrophic Amazonian forest. *Funct. Ecol.* 9, 65-76.
- Sabbi, L. de C., Ângelo, A.C., Boeger, M.R., 2010. Influência da luminosidade nos aspectos morfoanatômicos e fisiológicos de folhas de *Schinus terebinthifolius* Raddi

- (Anacardiaceae) implantadas em duas áreas com diferentes graus de sucessão, nas margens do Reservatório Iraí, Paraná, Brasil. *Iher. Ser. Bot.* 65, 171–181.
- Santiago, E.J.A., Pinto, J.E.B.P., Castro, E.M., Lameira, O.A., Conceição, H.E.O.D., Gavilanes, M.L., 2001. Aspectos da anatomia foliar da pimenta-longa (*Piper hispidinervium* C.DC.) sob diferentes condições de luminosidade. *Cie. Agrotec.* 25, 1035–1042.
- Schmidt, S., Stewart, G.R., 1998. Transport, storage and mobilization of nitrogen by trees and shrubs in the wet/dry tropics of northern Australia. *Tree Physiol.* 18, 403–410.
- Shao, Q., Wang, H., Guo, H., Zhou, A., Huang, Y., Sun, Y., Li, M., 2014. Effects of shade treatments on photosynthetic characteristics, chloroplast ultrastructure, and physiology of *Anoectochilus roxburghii*. *PLoS One* 9, e85996.
- Shimizu, M., Ishida, A., Tange, T., Yagi, H., 2006. Leaf turnover and growth responses of shade-grown saplings of four *Shorea* rain forest species to a sudden increase in light. *Tree Physiol.* 26, 449–457.
- StatSoft, I. (2011). Statistica for Windows (data analysis software), Version 10.0.
- Stewart, G.R., Pate, J.S., Unkovich, M., 1993. Characteristics of inorganic nitrogen assimilation of plants in fire-prone Mediterranean-type vegetation. *Plant, Cell Environ.* 16, 351–363.
- Stewart, G.R., Popp, M., Holzappel, I., Stewart, J.A., Dickie-Eskew, A., 1986. Localization of nitrate reduction in ferns and its relationship to environment and physiological characteristics. *New Phytol.* 104, 373–384.
- Systat Software, Inc. (2008). SigmaPlot for Windows, version 11.0.
- Terashima, I., Hanba, Y.T., Tholen, D., Niinemets, Ü., 2011. Leaf functional anatomy in relation to photosynthesis. *Plant Physiol.* 155, 108–16.
- Terashima, I., Fujita, T., Inoue, T., Chow, W.S., Oguchi, R., 2009. Green light drives leaf photosynthesis more efficiently than red light in strong white light: revisiting the enigmatic question of why leaves are green. *Plant Cell Physiol.* 50, 684–697.
- Tholen, D., Zhu, X.-G., 2011. The mechanistic basis of internal conductance: a theoretical analysis of mesophyll cell photosynthesis and CO₂ diffusion. *Plant Physiol.* 156, 90–105.
- Valladares, F., Niinemets, Ü., 2008. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* 39, 237–257.
- Veloso, H.P., Lourenço, A., Filho, R.R., Carlos, J., Lima, A., 1991. Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal. IBGE, Rio de Janeiro.
- Wang, L., Macko, S.A., 2011. Constrained preferences in nitrogen uptake across plant species and environments. *Plant. Cell Environ.* 34, 525–534.
- Warren, C.R., Löw, M., Matyssek, R., Tausz, M., 2007. Internal conductance to CO₂ transfer of adult *Fagus sylvatica*: variation between sun and shade leaves and due to free-air ozone

- fumigation. *Environ. Exp. Bot.* 59, 130–138.
- Xiao, Y., Tholen, D., Zhu, X.-G., 2016. The influence of leaf anatomy on the internal light environment and photosynthetic electron transport rate: exploration with a new leaf ray tracing model. *J. Exp. Bot.* 67, 6021–6035.
- Yemm, E.W., Cocking, E.C., Ricketts, R.E., 1955. The determination of amino-acids with ninhydrin. *Analyst* 80(948), 209-214.
- Zahoor, R., Zhao, W., Abid, M., Dong, H., Zhou, Z., 2017. Potassium application regulates nitrogen metabolism and osmotic adjustment in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) functional leaf under drought stress. *J. Plant Physiol.* 215, 30–38.
- Zhang, C., Zhan, D.-X., Luo, H.-H., Zhang, Y.-L., Zhang, W.-F., 2016. Photorespiration and photoinhibition in the bracts of cotton under water stress. *Photosynthetica* 54, 12–18.