

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

BRUNO HENRIQUE PIMENTEL ROSADO

**ECOLOGIA FUNCIONAL DE ÁRVORES NA MATA ATLÂNTICA:
O PAPEL DE ATRIBUTOS MORFOLÓGICOS, GRAU DE
EXPOSIÇÃO DA COPA E ALTITUDE SOBRE O USO DE ÁGUA
DAS ESPÉCIES**

Tese apresentada ao Instituto de
Biologia, da Universidade
Estadual de Campinas para
obtenção do Título de Doutor em
Biologia Vegetal na área de
Ecologia Funcional de Plantas.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Pereira Marinho Aidar
Co-orientador: Prof. Dr. Rafael Silva Oliveira

Campinas/2011

Campinas, 28 de fevereiro de 2011

Banca Examinadora

Prof. Dr. Marcos Pereira Marinho Aidar (Orientador)
(Instituto de Botânica de São Paulo)

Prof. Dr. Eduardo Arcoverde de Mattos
(Universidade Federal do Rio de Janeiro)

Prof. Dr. Sergio Tadeu Meirelles
(Universidade de São Paulo)

Prof. Dr. Flavio Antonio Maës dos Santos
(UNICAMP)

Prof. Dr. Carlos Alfredo Joly
(UNICAMP)

Suplentes

Prof. Dr. Ivany Ferraz Marques Valio
(UNICAMP)

Prof. Dr. Ladaslav Sodek
(UNICAMP)

Esta tese recebeu suporte do CNPq através de bolsa institucional e de bolsa de doutorado sanduíche durante seis meses na:

Faculty of Agriculture, Food and Natural Resources, The University of Sydney, Australia

sob a supervisão do

Prof Dr. Stephen Stewart Oakley Burgess.

Outras Instituições que também colaboraram para a execução deste trabalho:

- Instituto de Botânica/Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas
- Parque Estadual da Serra do Mar. Núcleos Picinguaba e Santa Virgínia
- Programa BIOTA/FAPESP.
- University of Western Australia (Ecosystem Research Group)

para meus pais (Paulo e Alba);

minha irmã (Carol);

minha avó (Alzira)

e Paloma;

que são a minha água

“Não, não sei o que é a inspiração. Mas também a verdade é que às vezes nós usamos conceitos que nunca paramos a examinar. Vamos lá a ver: imaginemos que eu estou a pensar determinado tema e vou andando, no desenvolvimento do raciocínio sobre esse tema, até chegar a uma certa conclusão. Isto pode ser descrito, posso descrever os diversos passos desse trajecto, mas também pode acontecer que a razão, em certos momentos, avance por saltos; ela pode, sem deixar de ser razão, avançar tão rapidamente que eu não me aperceba disso, ou só me aperceba quando ela tiver chegado ao ponto a que, em circunstâncias diferentes, só chegaria depois de ter passado por todas essas fases. Talvez, no fundo, isso seja inspiração, porque há algo que aparece subitamente; talvez isso possa chamar-se também intuição, qualquer coisa que não passa pelos pontos de apoio, que saltou de uma margem do rio para a outra, sem passar pelas pedrinhas que estão no meio e que ligam uma à outra. Que uma coisa a que nós chamamos razão funcione desta maneira ou daquela, que funcione com mais velocidade ou que funcione de forma mais lenta e que eu posso acompanhar o próprio processo, não deixa de ser um processo mental a que chamamos razão”.

José Saramago
Diálogos com José Saramago

“Entre os fatores que governam a vida dos vegetais, um dos mais importantes é o fator água”

Felix Kurt Rawitscher¹.1942. *Algumas noções sobre a transpiração e o balanço d'água de plantas brasileiras. Anais da Academia Brasileira de Ciências, ANO XIV*

¹ Professor do Departamento de Botânica da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras da Universidade de São Paulo, criado em 1934. Na década de 40, publicou os livros *Elementos básicos de botânica geral* e *Problemas de fitoecologia com considerações especiais sobre o Brasil Meridional*. Estudou especialmente as plantas do cerrado e foi orientador de Mário Guimarães Ferri, Mercedes Rachid, Berta Lange de Morretes e Aylthon Brandão Joly (Morretes, 1994. Felix Rawitscher. Perfis De Mestres. Estudos Avancados. vol.8).

Agradecimentos

Fazer esta tese não foi tarefa fácil. Tentar entender algum aspecto da miríade de processos que ocorrem em Florestas Tropicais Chuvosas em apenas quatro anos foi tarefa árdua. Quando lembro das dificuldades que enfrentei, do quanto amadureci e das coisas que aprendi, não apenas em relação à tese, mas ao longo dos últimos 10 anos, é impossível não lembrar das queridas pessoas que me ajudaram e me fizeram chegar até aqui. Esta tese, portanto, encerra uma etapa que começou 10 anos atrás, quando comecei a graduação, e dá início à carreira científica que sempre busquei e sonhei.

Ao meu orientador, Professor Marcos Aidar, por ter aceitado me orientar quando fizemos contato em agosto de 2006. Agradeço pela amizade, pela paciência, pelos ensinamentos, pelo enorme apoio, pelas inúmeras oportunidades que me deu, pelos trabalhos de campo (nos quais aprendi muito sobre nitrogênio) e por ter acreditado em mim desde o início.

Ao meu co-orientador, Professor Rafael Oliveira, pela amizade, paciência e por ter aceitado entrar de cabeça nesta empreitada quando ainda era pós-doutorando. Agradeço pela gigantesca ajuda e por ter o prazer em ensinar e compartilhar comigo o seu profundo conhecimento sobre os mistérios do fluxo de água em plantas, pois, sem o qual, teria sido extremamente difícil realizar este trabalho.

To my supervisor in Australia, Prof. Stephen Burgess, for his patience, friendship, lessons of humility and for have taught me so many important things about sap flow, science and life. And also for have introduced me to the wonderful world of Bubble Tea.

Ao Professor Carlos Alfredo Joly que, na qualidade de coordenador do Projeto Temático Biota/Gradiente Funcional, não poupou esforços para que este trabalho fosse conduzido com todas as facilidades e qualidade possíveis. Agradeço pela confiança depositada em mim para a execução de um trabalho que consumiu tanto em termos de recursos públicos. Obrigado pela constante cobrança, pois isto sempre me impulsionou a buscar o meu melhor para realizar este trabalho.

Ao Renato Belinello (Pezão) pela enorme amizade e ajuda nos mais variados momentos e pela diversão que era ir para o campo na “kombosa”. Renatão, o que aprendi com você (sobre o mundo e sobre a mata) não tem doutorado que ensine.

To my dear friends from ICT, Alec Downey and Alvaro Arias that came to Brazil two times to help me with sensors, cables, solar panels and dataloggers and for taught me how to keep the whole sap flow system running despite the humidity, ants, dirty, storms, water, fungus and etc. at the Atlantic rain forest. At least, I learned how to be a good electrician.

À Amanda Martins e Talita Colomeu pela paciência e grande dedicação na triagem e digitalização das raízes finas.

Aos integrantes do Projeto Biota Gradiente Funcional pela ajuda e parceria nos mais variados momentos, especialmente: Simone Vieira e Luciana Alves pela amizade e ajudas das mais variadas; Hélber Freitas por todas as importantes conversas sobre eddy covariance, fluxo de calor latente, sensível e etc; Susian Martins por fornecer os dados de solo e Juliano Groppo (Joba) pela ajuda salvadora com os dados de precipitação.

Ao Professor Eduardo Arcoverde de Mattos pelos conselhos, grande amizade e importantes ensinamentos dos últimos dez anos. É uma honra e um prazer que meu ex-orientador, que me viu dar os primeiros passos na vida acadêmica como seu aluno de iniciação científica, em abril de 2000, possa fazer parte da minha banca de doutorado. Ter sido seu aluno durante seis anos, foi de fundamental importância na minha formação.

Ao Professor Sergio Tadeu Meireles por ter aceitado participar da banca e pelas importantes contribuições ao longo das diferentes fases do meu doutorado.

Aos Professores Flavio Antonio Maës dos Santos, Ivany Valio e Ladaslav Sodek por terem aceitado participar da banca e por toda a ajuda.

Ao Programa de Pós-graduação, no nome dos coordenadores Marcelo Dornelas, Eliana Forni Martins e Sandra Guerreiro, por todo o suporte e apoio.

À secretária Maria Roseli por toda ajuda, gentileza e eficiência.

Aos Professores dos Departamentos de Biologia Vegetal e Animal da Unicamp por tudo o que aprendi nos últimos 4 anos.

Aos funcionários do Departamento de Biologia Vegetal por toda a ajuda.

Aos amigos da Pousada Betania e dos Núcleos Picinguaba e Santa Virgínia do PESM pela companhia, apoio e ajuda no campo.

Ao CNPq pelas bolsas de doutorado, doutorado sanduíche, mestrado e iniciação científica.

À FAPESP pelo suporte financeiro.

Aos queridos amigos que fiz em Campinas, com os quais aprendi muito, dividi risadas, tristezas, alegrias, batuques, brigas, rodas de capoeira e outros momentos inesquecíveis como ocorre em qualquer família. Lucas Kaminski, Pedro Cavalin, Luana Damasceno, Rafael Costa, Nina (Marise) Filizola, Arildo Dias, Nivea Dias, Julia Sfair, Cris Baldauf, Chris Correa, Jacira Rabelo, Pedro Eisenlohr, Aline Lima, Carol Scultori, Rubem Ávila (Rubão), Marisa Gesteira, José Ataliba, Carolina Virillo, Felipe Amorim, Larissa Veiga (Larissinha), Lorena Fonseca, Larissa Pereira (Larissona), Viviane Oliveira, Maira Padgurschi, Juliano “Pequeno” van Melis, Mariana Cruz Campos, André Rochelle, Leo Mirelles, Bruno Aranha, João Aranha, Debora Drucker, Marina Merlo, Sabrina Latansio-Aidar, Giseli Areias, Ewerton Manarin, Giampiero Bini Cano

(especialmente pelas madrugadas escaneando folhas), Livia Cordi, Gabriela Bieber e Paulinho, Daniel Paiva, Janaína Cortinoz, Adaíses Maciel, Erico Pereira-Silva, Sandra Obando, Cora, Rubem e Erich, Juca, Lucíola, Bruno Lenharo, Vornei, Guto, Lara, Lílian Casanova, Marcos Gallardo, Eduin Muñoz, Dú Mattez e Lucía. Agradeço especialmente: Luana Damasceno, Pedro Cavalin e Lucas Kaminski pelos maravilhosos e inesquecíveis momentos da nossa saudosa convivência sob o mesmo teto.

Aos queridos amigos Alberto Latorre, Adriana Carranza, Bruno Buzatto, Jeremy Hisinger e Mariana Cruz Campos por toda a amizade, apoio e companhia (especialmente nas aventuras que passamos para assistir os jogos da Copa Mundo de 2010 às duas da manhã) durante os quentes e frios seis meses que passei na Austrália.

To my friends from the University of Sydney and the University of Western Australia (Ecosystem Research Group) for the help, useful discussions and friendship. Special thanks goes to: Prof. Pauline Grierson, Prof. Erik Veneklaas, Prof. Hans Lambers, Prof. Mark Adams, Tim Bleby, Elizabeth McLean, Alison O'Donnell, Gerald Page, Kate Bowler, Ana Byrne, Douglas Ford, Chloe Flaherty, Jessica O'Brien, Ali Barlow, Nicolas Faivre, Kosta Voltchanskii and Bonnie Knott.

Aos meus pais, minha irmã e minha avó pelo apoio incondicional, compreensão, carinho e alegria reconfortantes com os quais me recebiam quando eu reaparecia no meu Rio de Janeiro depois de meses em Campinas/Ubatuba/São Luis do Paraitinga/Austrália.

À Paloma, por cada gesto, olhar e sorriso que, além de me fazerem um bem “danado de bom”, sempre me fizeram seguir em frente.

Ao Fred, Elza, Aline, Mauricio e Fabrício pelo gigantesco carinho e apoio.

Aos queridos amigos que sempre estão comigo mesmo quando estamos longe. Bruna Fonseca, Patrícia Pinho, Elisa Fichman, Maurício Salgado, Paula Celestino, Daniel Rocha, Rafael Leitão, Dani Kasper, Gina Cardinot, Amartya Saha, Gabi Joppert, Pedro Rossi, Ellen Fonte, Paula Lira, Bel Braz, André Dias, Karen von Dorp, Bráulio Santos, Sidclay Dias, Lilian Figueiredo e Viviane Grenha.

Aos meus queridos mestres do Instituto de Biologia da UFRJ, especialmente os do Departamento de Ecologia, por tudo o que me ensinaram.

À Mata Atlântica e à Restinga, que muito me ensinaram e de onde guardo maravilhosas lembranças.

Resumo

O entendimento de como diferentes espécies e/ou tipos funcionais de plantas utilizam água, requer a caracterização dos fatores que afetam o fluxo de água no contínuo solo-planta-atmosfera (SPA). Desta forma, esta tese reúne uma série de trabalhos nos quais investiguei como variações no uso de água de espécies arbóreas na Floresta Atlântica a partir de atributos morfológicos, seu reflexo sobre o fluxo de água do xilema e como ambos são afetados pelo grau de exposição da copa (EC) e à variação de fatores abióticos em função da altitude na Mata Atlântica. As altitudes estudadas, 100 e 1000 metros de altitude acima do nível do mar, correspondem às Florestas Ombrófila Densa de Terras Baixas (FODTB) e Montana (FODM). Com base na literatura foi assumido como premissa que na FODM, a maior radiação solar (RS) e demanda evaporativa do ar (DPV) favoreceriam a maior perda de água criando situações de maior vulnerabilidade à variação na disponibilidade hídrica do que na FODTB. Foram estudados componentes que fazem parte do contínuo SPA tais como a densidade de comprimento de raízes finas (DCR), que indica eficiência de absorção de água, repelência hídrica foliar (RHF) e densidade da madeira, além de medidas diretas de fluxo de água do xilema. As variações em atributos funcionais e seu reflexo no uso de água das espécies se deram tanto em função da EC e da variação dos fatores abióticos conforme aumento da altitude. Maiores DCR e RHF na FODM; regulação da transpiração noturna na FODM além de tendência de menores áreas de histerese de fluxo em relação a FODTB indicam ajustes associados ao uso da água. Estes resultados trazem importantes contribuições para o entendimento do funcionamento de floresta tropicais chuvosas ao evidenciar que luz e nutrientes não podem ser considerados como os únicos fatores limitantes destes ambientes.

Abstract

Understanding how different plant species and / or functional types use water requires characterization of the factors that affect the continuous soil-plant-atmosphere (SPA). This thesis presents a number of studies in which I investigated how changes in water use of tree species in the Atlantic Forest taking into account morphological attributes, its reflection on the sap flow and how both are affected by the degree of crown exposure (CE) and the variation of abiotic factors as a function of altitude in the Atlantic. The altitudes studied, 100 and 1000 meters above sea level, correspond to the lowland ombrophilous dense forest (LODF) and Montane (MODF). Based on the literature it was assumed that at the MODF, the higher solar radiation (SR) and air evaporative demand (VPD) would be lead to greater water loss by creating situations of greater vulnerability to changes in water availability than in LODF. Were studied components that are part of the continuum SPA such as fine root length density (RLD), which indicates efficiency water absorption, leaf water repellency (LWR) and wood density, besides measurements of sap flow. Variations in functional attributes and its reflection on water use species that have were associated to CE and the variation of abiotic factors according to altitude. Higher RLD and LWR at the MODF; regulation of nighttime transpiration at the MODF and trend of lower hysteresis areas of sap flow in relation to the LODF indicate adjustments associated with the water use. These results provide important contributions to understanding tropical rain forest functioning and indicate that light and nutrients can not be considered as the only limiting factors at these environments.

Sumário**Pág.**

Resumo.....	8
Abstract	9
Introdução Geral.....	11
Capítulo 1. Fine Root Biomass and Root Length Density in a Lowland and a Montane Tropical Rain Forest, Sp, Brazil.....	27
Capítulo 2. Is Leaf water repellency related to vapor pressure deficit and crown exposure in tropical forests?.....	45
Capítulo 3. Diversity in Nighttime Transpiration Behavior of Woody Species at the Atlantic Rain Forest, Brazil.....	50
Capítulo 4. Relação entre fluxo de água do xilema e características morfológicas de espécies arbóreas em florestas tropicais.....	74
Conclusão e Considerações finais.....	118

Introdução Geral

Apesar de parecer recente, em função do atual cenário de mudanças climáticas globais, a busca pelo entendimento do papel das florestas sobre o ciclo da água, vem desde a antiguidade (McCulloch & Robinson 1993; Andréassian 2004). Entre os anos 77 e 79 D.C., Plínio, *O Velho* publicou a enciclopédia *Naturalis Historia*, na qual consta a seguinte passagem: “*Muitas vezes, depois das árvores terem sido cortadas, mananciais que elas utilizavam para alimentar-se emergem: por exemplo, sobre o monte Himus, quando Cassandro sitiou os Gauleses e derrubou uma floresta para construir um entrincheiramento. Muitas vezes, desastrosas enxurradas são formadas após a derrubada de florestas de montanha, que prendiam as nuvens para trás e também as alimentavam*”.

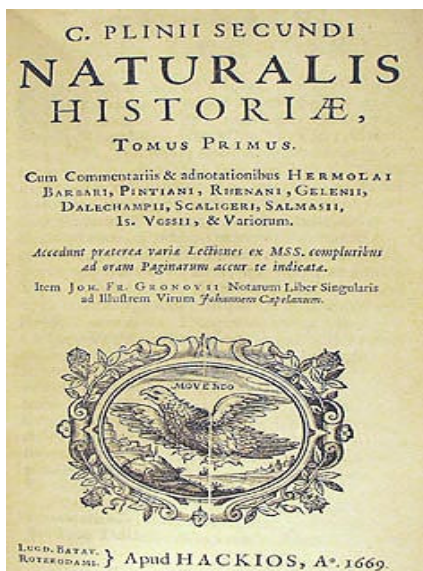


Figura 1. Capa da *Naturalis Historia*

Quase dois mil anos depois, em 1820, no livro, *Sistema Analítico dos conhecimentos positivos do Homem*, o naturalista Jean-Baptiste de Lamarck menciona que “*em todos os lugares nos quais destruiu as plantas de grande porte que protegem o solo, por razões de satisfazer o desejo do momento, o homem rapidamente torna estéril o solo que ele habita e faz com que os rios sequem*”.

Ao longo da História, avanços metodológicos e científicos nos trazem a um cenário no qual entender o funcionamento de florestas, não apenas a partir de uma perspectiva

das relações hídricas, deve passar pela integração de diferentes níveis hierárquicos que vão desde o fisiológico até o ecossistêmico (McCulloch & Robinson 1993; Buchmann 2002; Andréassian 2004; Beyschlag & Ryel, 2007). Neste sentido, estudos eco-hidrológicos têm buscado entender e quantificar como a relação entre suprimento e demanda de água influenciam a evapotranspiração de comunidades vegetais. Do ponto de vista biofísico, um ecossistema não pode utilizar mais água (através da transpiração e evaporação direta no solo) do que está disponível (precipitação menos escoamento superficial e infiltração). Na escala do indivíduo e da comunidade, cada espécie vegetal pode explorar o suprimento de água através de uma variedade de mecanismos que permitem diferentes usos deste recurso.

A detecção da ampla escala de convergência funcional entre as plantas em diversos estudos, realizados em diferentes ambientes, tem sido feita a partir de um diverso conjunto de características que são capazes de descrever como cada espécie responde à multiplicidade de fatores ambientais e afetam a aquisição de recursos (Westoby et al. 2002; de Mattos et al. 2004). O entendimento de como diferentes espécies e/ou tipos funcionais de plantas utilizam água, e como comunidades vegetais afetam o balanço hídrico de um ecossistema, requer a caracterização dos fatores que afetam o fluxo de água no contínuo solo-planta-atmosfera (SPA; Figura 2) (Burgess 2006). O estudo do fluxo da água do xilema, que é resultante de uma série de características presentes ao longo do contínuo SPA, tem sido capaz de clarificar os modos de aquisição de recursos e mecanismos de respostas das plantas à variação ambiental (Burgess et al. 1998; Burgess & Dawson 2004; Burgess 2006; Dawson et al. 2007; Marks & Lechowicz 2007; Scholz et al. 2008).

Dentro do cenário de respostas das plantas às variações ambientais, a Mata Atlântica destaca-se por se um bioma que, ao longo dos anos, sofreu 92% de redução da sua área original pela intensa exploração dos seus recursos e uma acelerada ocupação humana. Recentemente, a Mata Atlântica foi inserida na classificação de *hot spots* da biodiversidade cuja definição são biomas que possuem alta diversidade de espécies e de endemismos e que perderam mais de 70% de sua área original (Myers et al. 2000). A Mata Atlântica possui uma ampla distribuição geográfica, do sudeste do Rio Grande do Norte até o sudeste de Santa Catarina (Ab'Saber 2003).

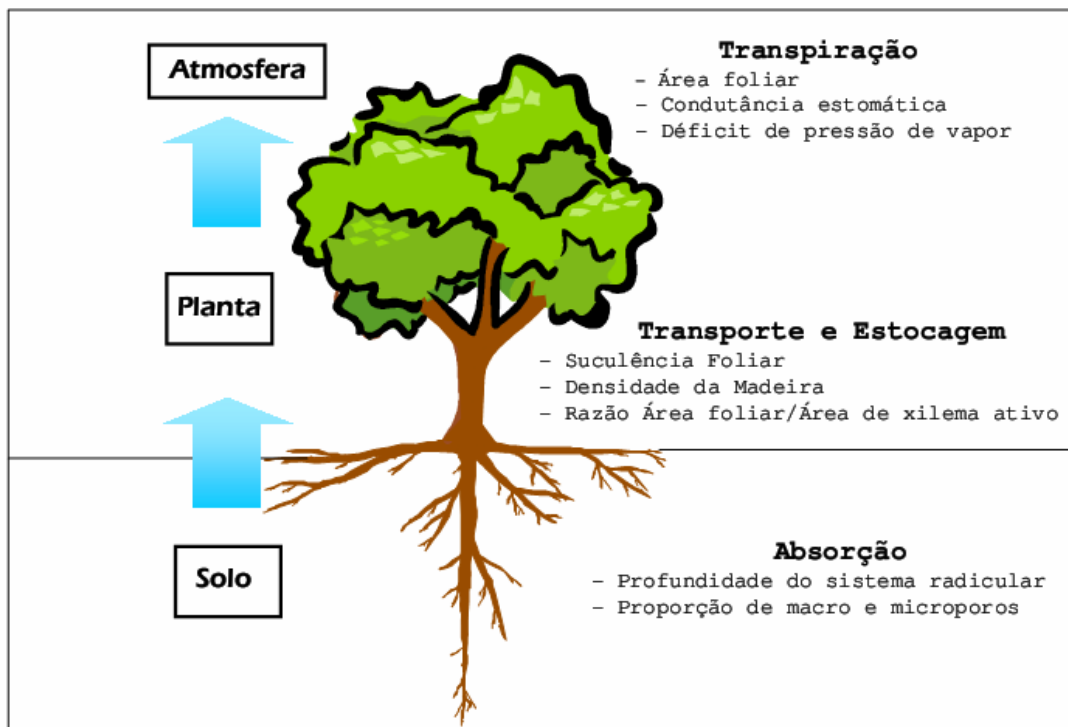


Figura 2. Representação esquemática do contínuo solo-planta-atmosfera (SPA). Em cada um dos três compartimentos do contínuo, características associadas aos processos de absorção, transporte e estocagem e transpiração afetam diretamente o uso de água e a manutenção de um balanço hídrico positivo nas plantas. Cada um dos capítulos desta tese está relacionado a cada um dos compartimentos que fazem parte do contínuo SPA.

No Parque Estadual da Serra do Mar (PESM) a área de domínio da Mata Atlântica, denominada Floresta Ombrófila Densa, é subdividida de acordo com a hierarquia topográfica por refletir fisionomias e composições diferentes, em função de variações das faixas altimétricas e latitudinais (Veloso et al. 1991). Com uma área de quase 315 mil ha, o PESM, que vai desde o norte do estado de São Paulo, na divisa com o Rio de Janeiro, até o sul do estado, representa a maior porção contínua preservada de Mata Atlântica do Brasil e é dividido em Núcleos administrativos tal como mostrado na figura 3.



Figura 3. Localização de cada um dos núcleos administrativos que compõem o Parque Estadual da Serra do Mar.

Dada a escassez de estudos sobre diversos aspectos do funcionamento das diferentes fisionomias da Floresta Ombrófila Densa Atlântica e a urgente necessidade de compreender os processos biológicos que estruturam este ecossistema, foi desenvolvido o Projeto Temático *Biota Gradiente Funcional/FAPESP*, no qual esta tese está inserida. O principal objetivo deste Projeto Temático foi investigar de forma multidisciplinar, com a

participação de pesquisadores de diferentes instituições nacionais e internacionais (<http://www.biota.org.br/projeto/index?show+251>), a seguinte hipótese de trabalho no PESM: *são as características intrínsecas das espécies que determinam a composição florística, a estrutura e o funcionamento das diferentes fisionomias da Floresta Ombrófila Densa*. Para isso, o Projeto Temático *Biota Gradiente Funcional* envolveu diferentes níveis de investigação: *Florística e fitossociologia; Estudos auto-ecológicos e populacionais; Grupos funcionais; Funcionamento do ecossistema e Modelagem*.

1.1 Descrição das áreas de estudo do Projeto *Biota Gradiente Funcional*

Neste Projeto Temático, os Núcleos selecionados no PESM foram os de Picinguaba e Santa Virgínia (Figura 3). O Núcleo Picinguaba (23° 31' a 23° 34' S e 45° 02' a 45° 05' W) situa-se no município de Ubatuba, SP. As altitudes no Núcleo Picinguaba variam do nível do mar a 1.340 metros. O clima regional é tropical úmido, (Setzer 1966), com uma precipitação média anual superior a 2.200 mm. Mesmo nos meses mais secos, junho a agosto, a precipitação média mensal nunca é inferior a 80 mm (Tabela 1; Figura 4). O Núcleo Santa Virgínia (23° 17' 23° 24' S e 45° 03' 45° 11' W) situa-se nos municípios de São Luís do Paraitinga, Cunha e Ubatuba, e é recoberto, predominantemente, pela Floresta Ombrófila Densa Montana (Veloso et al. 1991), uma vez que esta localizado a uma altitude que varia de 850 a 1.100 m. O clima regional é tropical temperado, (Setzer 1966), com uma precipitação média anual superior a 2.000 mm. Mesmo nos meses mais secos, junho a agosto, a precipitação média mensal nunca é inferior a 60 mm (Tabela 1; Figura 4).

Tabela 1. Relação dos postos de precipitação nos municípios de Ubatuba e São Luís do Paraitinga (Martins, 2010).

Postos	Latitude	Longitude	Altitude (m)	Bacia	Município
E2-009	23°23'	45°07'	220	Grande Ubatuba	Ubatuba
E2-132	23°14'	45°18'	740	Paraibuna	São Luís do Paraitinga
E2-135	23°22'	45°12'	815	Paraibuna	São Luís do Paraitinga
2345067	23°19'	45°08'	888	Paraibuna	São Luís do Paraitinga

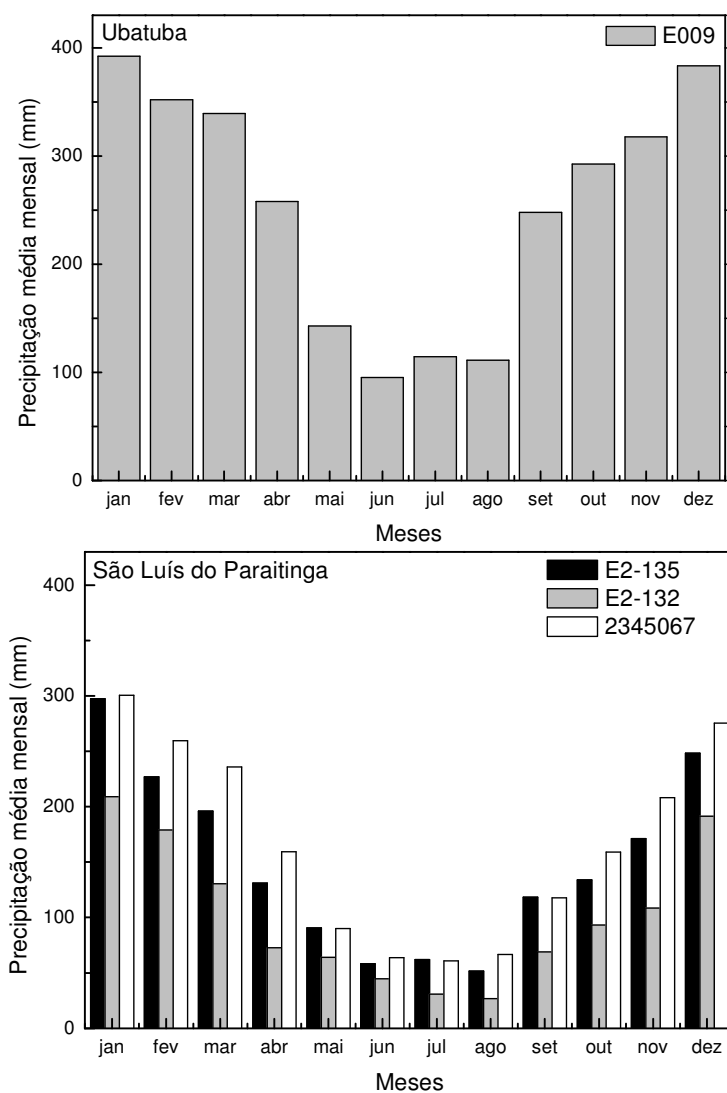


Figura 4. Precipitação média mensal no período entre 1973-2008 em diferentes postos de precipitação nos municípios de Ubatuba (Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas) e São Luís do Paraitinga (Floresta Ombrófila Densa Montana) no estado de SP.

O Projeto Temático foi desenvolvido em diferentes fisionomias de floresta nestes dois Núcleos: Mata de Restinga, Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas (FODTB), Floresta Ombrófila Densa Submontana e Floresta Ombrófila Densa Montana (FODM). Nestas fisionomias, foram implantadas parcelas de 100 x 100 m, totalizando quatro hectares, subdivididas em 100 sub-parcelas contíguas de 10 x 10 m. A única exceção foi a Mata de Restinga onde apenas uma parcela foi implantada. Tanto as parcelas como as sub-parcelas foram delimitadas com estacas permanentes. A caracterização das áreas e a ampla maioria dos estudos realizados no âmbito do Projeto Temático foram realizados nestas parcelas nas quais indivíduos arbóreos com perímetro à altura do peito maior que 15 cm foram marcados, numerados e mapeados através de coordenadas X e Y.

Nesta tese, as FODTB e FODM foram escolhidas como as áreas de estudo por se tratarem dos extremos fisionômicos de Floresta Ombrófila Densa contemplados pelo Projeto Temático. No caso das FODTB e FODM, as parcelas foram implantadas nas altitudes em torno de 100 e 1000 metros acima do nível do mar, respectivamente. De posse das informações geradas pelos diferentes grupos de pesquisa atuando em cada um dos níveis de abordagem mencionados acima, apresentarei brevemente as distinções em termos de condições e recursos das FODTB e FODM. Esta diferenciação será de fundamental importância para o entendimento geral dos resultados e conclusões apresentados nesta tese.

Em função do aumento da altitude, observam-se mudanças nas condições ambientais tais como menor pressão parcial do CO₂ atmosférico, menor velocidade do vento e maior radiação (Leuschner 2000; Körner 2007; Rosado et al., 2010a). No caso das duas fisionomias estudadas, além das variações mencionadas acima, também se observam

distinções em relação aos solos. Embora sejam rasos em ambas as altitudes, o solo da FODM é mais antigo e possui maior riqueza nutricional que os solos da FODTB, no entanto, em ambas as fisionomias, a concentração de nutrientes é maior nas camadas superficiais do solo (Martins, 2010). Em relação à textura do solo, a FODTB apresenta textura argilo-arenosa (areia: 60.4%; argila: 31.5%) enquanto a FODM a textura é argilo-arenosa (areia: 57.4%; argila: 20.3%) (consulte Martins, 2010, para maiores detalhes). Na FODM as menores temperaturas do ar e do solo e a menor umidade do solo (Sousa Neto 2008) afetam negativamente tanto a produção de serapilheira quanto as taxas de decomposição que são menores na FODM quando comparadas a FODTB (Martins, 2010). Além destas variações, a maior presença de neblina na FODM (Rosado et al., 2010a), conhecida como “precipitação oculta” (Rizzini 1997), pode desempenhar um importante papel no balanço hídrico das plantas uma vez que atua como fonte de água para as plantas (Burgess & Dawson 2004). No entanto, a presença de neblina também pode reduzir significativamente a quantidade de radiação solar recebida durante o dia, o que conseqüentemente, reduz a taxa fotossintética e os fluxos transpiracionais (Graham et al. 2005). Outra importante diferenciação entre as FOTB e FODM está relacionada à topografia. Na FOTB, a topografia do terreno apresenta grau de inclinação entre 10-30° enquanto a FODM apresenta valores >30° (Alves et al. 2010; Martins, 2010).

Considerando-se o atual cenário de mudanças climáticas, estudos ao longo de gradientes altitudinais são uma excelente oportunidade para a compreensão não apenas das alterações em processos ecossistêmicos, tais como a decomposição de serapilheira e produtividade primária, mas também de como as plantas responderão a estas mudanças. Tais estudos devem passar obrigatoriamente por uma abordagem que foque nas relações

entre as características morfofisiológicas, o significado funcional de cada uma delas e seus efeitos sobre o contínuo SPA. Uma vez que alterações nos níveis de precipitação podem alterar os padrões de distribuição das espécies tropicais (Engelbrecht et al. 2005), o entendimento integrado destas características morfofisiológicas auxilia a descrição do comportamento ecofisiológico das espécies ao longo de variações espaço-temporais nas condições e recursos. Especialmente no caso da Mata Atlântica, ainda são poucos os estudos sobre como conjuntos de características afetam a capacidade de resposta das plantas frente à natureza interativa dos fatores ambientais e o uso de recursos e suas implicações sobre a composição de espécies e a estrutura da comunidade (de Mattos et al. 2004; Rosado & de Mattos, 2010b).

Com base em tudo o que foi exposto, esta tese é o resultado do meu crescente interesse na área de ecologia funcional e relações hídricas em plantas nos últimos anos e que se insere na parte de *Estudos auto-ecológicos e populacionais* do Projeto Temático *Biota Gradiente Funcional*. Neste nível de abordagem as gerais questões investigadas pelo Projeto Temático foram: (i) *quais são as características intrínsecas das espécies que determinam seu sucesso reprodutivo; sua capacidade de germinação, recrutamento e crescimento; sua estrutura populacional; sua variabilidade genética; sua inserção em grupos funcionais; e sua participação nos ciclos de carbono e nitrogênio?* (ii) *estas características se modificam ao longo da variação altitudinal, representada pelas diferentes fisionomias da Floresta Ombrófila Densa?* Além desta abordagem, Os resultados apresentados nesta tese também contribuem diretamente para os níveis de abordagem de *Grupos Funcionais*, *Funcionamento do Ecossistema* e *Modelagem* que, de maneira sucinta, objetivaram maior entendimento: das respostas das plantas e

funcionamento do ecossistema através do agrupamento de espécies em grupos ou tipos funcionais; do funcionamento das florestas em termos de ciclo da água e balanço de carbono; de modelos sobre o funcionamento da Floresta Ombrófila Densa em diferentes cenários de aquecimento global, respectivamente.

Em relação ao histórico de trabalhos realizados na Mata Atlântica, cabe ressaltar o trabalho pioneiro sobre as relações hídricas de plantas realizado por Coutinho (1962). Apesar de ter avaliado exclusivamente epífitas, Coutinho (1962) aponta para o fato de que há forte restrição estomática e redução na transpiração em períodos de baixa disponibilidade de água durante veranicos² neste bioma (Figura 5). Além disso, estas plantas apresentam distintas características associadas ao armazenamento de água na Mata Atlântica: reservas internas (tecidos) e/ou externas tais como o acúmulo de água em rosetas de bromélias tanque (Coutinho 1962). Apesar da sua importância em termos históricos, o estudo de Coutinho (1962) é de pouca relevância para o entendimento do contínuo SPA de espécies arbóreas. Isto se deve às diferenças de forma de vida e hábito que impossibilitam a comparação e a elaboração de pressupostos concretos sobre as relações hídricas de plantas arbóreas da Mata Atlântica.

² Embora não haja uma forte sazonalidade na Mata Atlântica, há a ocorrência de veranicos (Coutinho 1962) e de mudanças no regime de precipitação (Webb et al. 2005). Na literatura, não há uma padronização sobre o uso do termo “estação seca” e existem várias definições baseadas em aspectos climáticos, ecológicos, agrícolas, hidrológicos e socioeconômicos (Rizzini 1997; Heinn 2002). Nesta tese, portanto, será utilizada a definição climatológica de Heinn (2002) onde “estação seca” é aquela na qual ocorre uma redução e/ou ausência de precipitação. Cabe ressaltar que em um recente estudo hidrológico realizado na Floresta Ombrófila Densa Montana no Núcleo Santa Virgínia do PESM (Groppo, 2010) foi verificada a existência de uma estação seca.

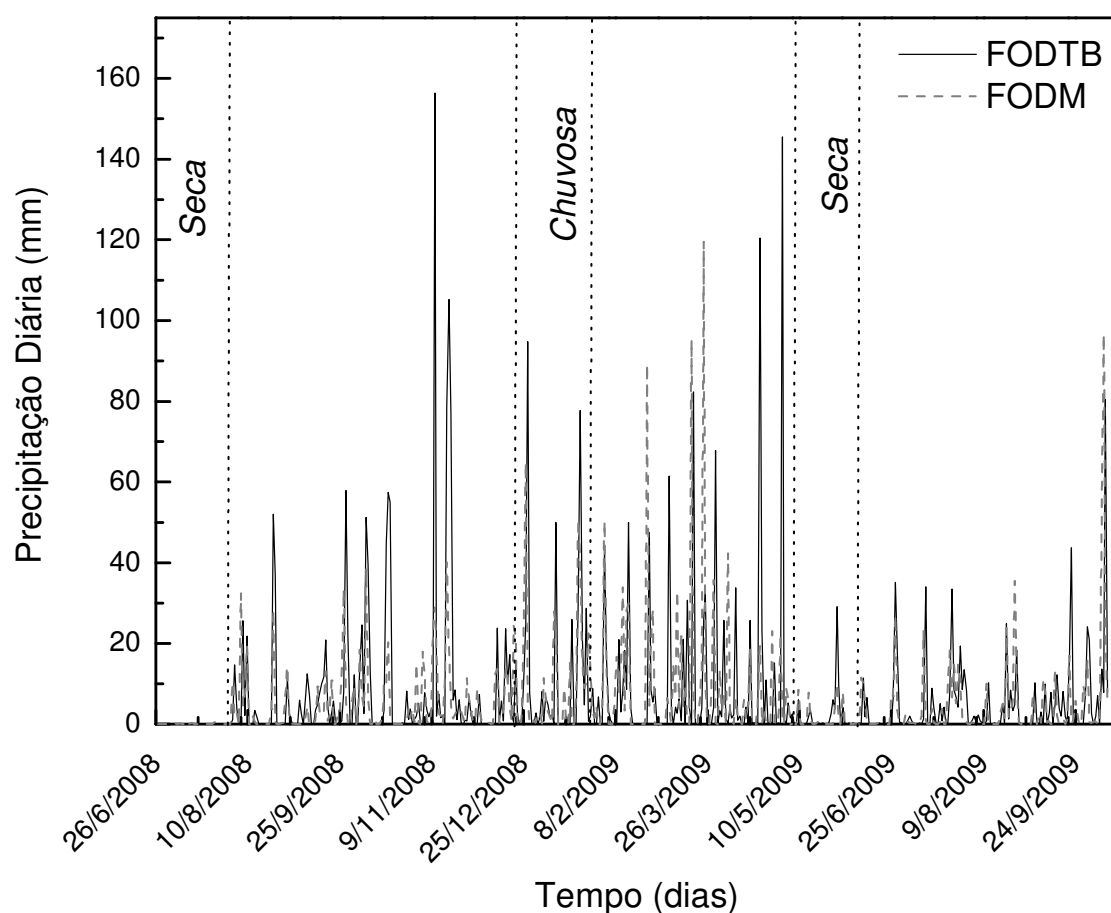


Figura 5. Precipitação diária (mm) na Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas e Ombrófila Densa Montana. Estão destacados os períodos que foram selecionados para análise dos dados do fluxo de água do xilema (terceiro e quarto capítulos, como descrito abaixo).

Neste contexto, esta tese representa um importante avanço no conhecimento sobre diferentes aspectos funcionais associados ao SPA de espécies arbóreas que co-ocorrem nas FODTB e FODM no PESH e que apresentam diferenças quanto ao estrato ocupado e grau de exposição da copa. Partindo-se da premissa que as espécies que ocupam os estratos superiores da floresta responderão mais diretamente às variações atmosféricas

que espécies do sub-bosque, espécies com menor grau de exposição da copa apresentarão fluxos de água similares independentemente da altitude.

A tese compreende tanto trabalhos já publicados ou em fase de submissão e cada um deles focou em aspectos relacionados a cada um dos compartimentos e processos responsáveis por modular o contínuo SPA (Figura 2). Como mencionado acima, através do Projeto Temático *Biota Gradiente Funcional/FAPESP*, a estrutura de parcelas e o fato de que indivíduos arbóreos com perímetro à altura do peito maior que 15 cm já se apresentavam devidamente marcados, numerados e mapeados através de coordenadas X e Y, possibilitaram a identificação e escolha das espécies e indivíduos arbóreos para os estudos apresentados nos diferentes capítulos desta tese.

O capítulo intitulado “*Fine root biomass and root length density in a Lowland and a Montane Tropical Rain Forest, SP, Brazil*” (Rosado et al.), retrata as variações no investimento de raízes finas entre altitudes e as implicações deste investimento diferencial nas respostas das espécies aos diferentes fatores ambientais entre altitudes. O segundo capítulo, intitulado “*Is leaf water repellency related to vapor pressure deficit and crown exposure in tropical forests?*” (Rosado et al. 2010a), foi publicado no *Acta Oecologica* e traz o primeiro teste do efeito do grau de exposição da copa e déficit de pressão de vapor da atmosfera sobre o grau de repelência hídrica foliar em cinco espécies que co-ocorrem nas Florestas Ombrófilas Densas de Terras Baixas e Montana. O terceiro capítulo, intitulado “*Diversity in nighttime transpiration behavior of woody species at the Atlantic Rain Forest, Brazil*” (Rosado et al.), traz novos e importantes resultados acerca dos fatores que modulam a transpiração noturna em plantas e as implicações deste fenômeno sobre o uso de água das espécies. O quarto capítulo “*Relação entre Fluxo de*

Água do Xilema e Características Morfológicas de Espécies Arbóreas em Florestas Tropicais” (Rosado et al.) integra resultados apresentados nos capítulos anteriores e apresenta a contribuição de atributos morfológicos, grau de exposição da copa, altitude, o efeito do tamanho dos indivíduos sobre o uso de água total e comparações da suscetibilidade destas espécies à variação da disponibilidade hídrica.

Referências

- Ab'Saber, A. (2003) Os Domínios Morfoclimáticos de Natureza no Brasil - Potencialidades Paisagísticas, 4^a edn. Ateliê Editorial, São Paulo.
- Andréassian, V. (2004) Waters and forests: from historical controversy to scientific debate. *Journal of Hydrology*, 291, 1-27.
- Beyschlag, W. & Ryel, R.J. (2007) Plant physiological ecology: An essential link for integrating across disciplines and scales in plant ecology. *Flora*, 202, 608-623.
- Buchmann, N. (2002) Plant ecophysiology and forest response to global change. *Tree Physiology*, 22, 1117-1184.
- Burgess, S.S.O. & Dawson, T.E. (2004) The contribution of fog to the water relations of *Sequoia sempervirens* (D. Don): foliar uptake and prevention of dehydration. *Plant, Cell and Environment*, 27, 1023–1034.
- Burgess, S.S.O. (2006) Measuring transpiration responses to summer precipitation in a Mediterranean climate: a simple screening tool for identifying plant water-use strategies. *Physiologia Plantarum*, 127, 404-412.
- Coutinho, L.M. (1962). Contribuição ao conhecimento da ecologia da Mata Pluvial Tropical. *Boletim da Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da USP* 18:11-219.

- de Mattos, E.A., Braz, M.I.G., Cavalin, P.O., Rosado, B.H.P., Gomes, J.M., Martins, L.S.T., & Arruda, R.C.O. (2004). Variação espacial e temporal em parâmetros fisioecológicos de plantas. In Pesquisas de longa duração na restinga de Jurubatiba. Ecologia, história natural e conservação (eds C.F.D. Rocha, F.A. Esteves & F.R. Scarano), pp. 99-116. RiMa editora, São Carlos.
- Engelbrecht, B., Kursar, T., & Tyree, M. (2005) Drought effects on seedling survival in a tropical moist forest. *Trees*, 19, 312-321.
- Graham, E.A., Mulkey, S.S., Kitajima, K., Phillips, N.G., & Wright, S.J. (2005) Cloud cover limits net CO₂ uptake and growth of a rainforest tree during tropical rainy seasons. *Proceedings National Academy of Sciences*, 100, 572-576.
- Gropp, J.D. (2010) Caracterização hidrológica e dinâmica do nitrogênio em uma microbacia com cobertura florestal (Mata Atlântica), no Parque Estadual da Serra do Mar, núcleo Santa Virgínia. Doutorado, USP, Piracicaba.
- Heim, R.R. (2002) A Review of Twentieth-Century Drought Indices Used in the United States. *American Meteorological Society*, 1149-1165.
- Körner, C. (2007) The use of 'altitude' in ecological research. *Trends in Ecology and Evolution*, 22, 569-574.
- Leuschner, C. (2000) Are high elevations in tropical mountains arid environments for plants? *Ecology*, 81, 1425-1436.
- Martins, S.C. (2010) Caracterização dos solos e serapilheira ao longo do gradiente altitudinal da Mata Atlântica, estado de São Paulo. Tese Doutorado, USP, Piracicaba, SP.

- McCulloch, J.S.G. & Robinson, M. (1993) Hystory and Forest Hydrology. *Journal of Hydrology*, 150, 189-216.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B., & Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853-858.
- Rizzini, C.T. (1997) *Tratado de Fitogeografia do Brasil*, 2 edn. Âmbito Cultural Edições, Rio de Janeiro.
- Rosado, B.H.P., Oliveira, R.S., & Aida, M.P.M. (2010a) Is leaf water repellency related to vapor pressure and crown exposure in tropical forests? *Acta Oecologica*, 36, 645-649.
- Rosado, B.H.P. & de Mattos, E.A. (2010b) Interspecific variation of functional traits in a CAM-tree dominated sandy coastal plain. *Journal of Vegetation Science*, 21, 43-54.
- Setzer, J. 1966. *Atlas climatológico do estado de São Paulo*. Comissão Interestadual da Bacia do Paraná-Paraguai. CESP, São Paulo
- Sousa Neto, E.R. (2008) Perdas de nitrogênio pela emissão de óxido nitroso (N₂O) e sua relação com a decomposição da serapilheira e biomassa de raízes na floresta de Mata Atlântica. *Dissertação Mestrado*, USP, Piracicaba, SP.
- Veloso, H.P., Rangel-Filho, A.L.R., & Lima, J.C.A. (1991) *Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal*, Rio de Janeiro. Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística-IBGE. 123 p.
- Webb T.J., W., F., Hannah, L. & Gaston, K (2005) Forest cover-rainfall relationships in a biodiversity hotspot: the Atlantic forest of Brazil. *Journal of Ecological Applications*, 15, 1968-1983.

Westoby, M., Falser, D.S., Moles, A.T., Wesk, P.A., & Wright, I.J. (2002) Plant ecological strategies: some leading dimensions of variaton between species. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 33, 125-159.

Capítulo 1

Fine root biomass and root length density in a Lowland and a Montane Tropical Rain Forest, SP, Brazil.

Bruno Henrique P. Rosado^{1,2,*}, Amanda C. Martins^{2,4}, Talita C. Colomeu^{2,4},
Rafael S. Oliveira², Carlos A. Joly² and Marcos P. Marinho Aida³

⁽¹⁾Bolsista Doutorado/CNPq. Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, IB, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brazil.

⁽²⁾Departamento de Botânica, IB, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, SP, Brazil

⁽³⁾Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Instituto de Botânica, SP, Brazil

⁽⁴⁾Pontifícia Universidade Católica De Campinas, Centro De Ciências Da Vida, Faculdade de Ciências Biológicas, SP, Brazil.

^(*)Corresponding author: Departamento de Biologia Vegetal, IB Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, CEP: 13083-970, Brazil; e-mail: brunorosado@gmail.com; fax: ++ 55 (0)19 35216374; tel: ++ 55 (0)19 35216175.

Abstract

Fine roots, <2 mm in diameter, are responsible for water and nutrient uptake and therefore have a central role in carbon, nutrient and water cycling at the plant and ecosystem level. The root length density (RLD), fine root biomass (FRB) and vertical fine root distribution (VRD) in the soil profile have been used as good descriptors of resource-use efficiency and carbon storage in the soil. Along altitudinal gradients, decreases in temperature and radiation inputs (depending on the frequency of fog events) may reduce decomposition rates and nutrient availability what might stimulate increases in fine root investment to increase absorption of resources. We evaluated the seasonal variation of fine root parameters in the Lowland and Montane forest at the Atlantic Rain Forest. We hypothesized that the investment in FRB and RLD at soil surface will be higher in the Montane forest, which can maximize the efficiency of resource absorption. Fine root biomass and root length density were higher in the the Montane forest in both seasons, especially at the 0-5 layer. Total FRB in the top 30cm of the soil at the Lowland site was 334.53 g m^{-2} in the dry season and 219.11 g m^{-2} in the wet season and 875.22 and 451.04 g m^{-2} at the Montane forest in the dry and wet season, respectively. We discuss the different mechanisms associated to the differential investment in fine roots between forests and their implications to ecophysiological responses of plant species to changes in conditions and resources along the altitudinal variation at the Atlantic Rain Forest.

Key words: Nutrient uptake, vertical distribution of fine roots, seasonal variation, altitudinal gradient, Atlantic Rain Forest

Introduction

Fine roots, defined as those <2 mm in diameter, are responsible for water and nutrient uptake and therefore have a central role in carbon, nutrient and water cycling at the plant and ecosystem level (Nepstad et al. 1994; Jackson et al. 1997; Gordon & Jackson 2000). High fine root densities increase the hydraulic contact between plants and the soil, water uptake rates and therefore contribute to higher transpiration rates (Nepstad et al. 1994; Williams et al. 1998) and embolism repair (Zeppel et al. 2004). In addition, 60% of the carbon fixed in annual basis is allocated belowground (Jackson et al. 1996, 1997) and the amount of carbon and nutrients returned to the soil via decomposition of fine roots may be equal or higher in comparison to leaves (Jackson et al. 1997).

Root length density (RLD), i.e. the total root length per unit soil volume, has been used as a good descriptor of resource use efficiency and may indicate the potential of water and nutrient uptake of a vegetation stand (Soethe et al. 2006). Fine root biomass (FRB) is an important parameter related to carbon allocation and carbon turnover at the ecosystem level (Nepstad et al. 1994; Jackson et al. 1997). The evaluation of vertical fine root distribution (VRD) in the soil profile indicates (i) the plant's resource use capacity in soil; (ii) the efficiency to avoid nutrient losses by leaching (Nepstad et al. 1994; Soethe et al. 2006); (iii) and fine root's contribution to biogeochemical cycles (Jackson et al. 1996).

Along altitudinal variations in tropical forests, the investment in fine roots tend to increase in response to changes of different environmental factors such as radiation, temperature and nutrient availability in soil (Soethe et al. 2006; Leuschner et al. 2007; Graefe et al. 2008). In tropical montane forests, the lower temperatures and lower radiation inputs (depending on frequency of fog events) may reduce the decomposition

rates and nutrient availability (Bruijnzeel & Veneklaas 1998). At higher altitudes, lower temperatures may promote the reduction (i) in microbial nutrient mineralisation rates; (ii) mycorrhizal fungi activities and their nutrient supply functions and (iii) carrier activity in the root plasma membranes, which are temperature sensitive, leading to reductions in nutrient uptake (Leuschner et al. 2007). Thus, a higher RLD might counterbalance the lower nutrient-cycling rates allowing nutrient uptake (Soethe et al. 2006).

Curiously, although abiotic factors such as temperature, nutrient and water availability may stimulate fine root production (Gill & Jackson 2000; Yavitt & Wright 2001; Zobel et al. 2007), controversial results have been found among studies. At higher altitudes in different ecosystems, factors such as waterlogged soils, lower temperatures, reductions in trees size and species richness, might contribute to lower fine root investment (Soethe et al. 2006; Leuschner et al. 2007; Graefe et al. 2008). For instance, seasonal variations and increases in RLD were not observed along an altitudinal gradient from 1900 to 3000 m at tropical forests in Ecuador (Soethe et al. 2006). However, increases in fine root dynamics (root length production and root turnover) have been observed along an altitudinal gradient, from 1050 to 3060 m, at the South Ecuadorian mountain rainforests (Graefe et al. 2008). At the Brazilian Atlantic Rain Forest, Sousa Neto (2008) have found higher fine root biomass at the Montane forest and significant increases in fine root biomass from wet to dry season. However, his study was focused on the first 10 cm of soil profile and information on deeper soil profile is still lacking.

In the present study we evaluated the variation of fine root parameters at the Atlantic Rain Forest in different altitudes in the wet and dry seasons. Despite the importance of fine roots in different scales, the difficulties associated to sampling and

evaluation of different factors affecting fine roots parameters (e.g species composition, soil moisture, nutrient and water availability, temperature and soil texture) lead to a lack of information for different environments (Jackson et al. 1996, 1997; Gill & Jackson 2000; Soethe et al. 2006, Leuschner et al. 2007, Graefe et al. 2008). There is scarce information about the belowground compartment in tropical forests and these data are essential to parameterize models about ecosystem functioning and plant responses to climate changes. We hypothesized that (i) the investment in FRB and RLD along the soil profile will be higher in the Montane forest; (ii) the proportion of roots near the soil surface will be higher at the Montane forest.

Material and Methods

Study sites

Our study was conducted in lowland and montane forest in the Serra do Mar State Park, which is the largest protected area of Atlantic Rain Forest and covers 315,000 hectares in the north of São Paulo state, Brazil. The Lowland forest is 100 m above sea level- ($23^{\circ} 31'$ to $23^{\circ} 34'$ S and $45^{\circ} 02'$ to $45^{\circ} 05'$ W) and has a tropical climate and a mean annual precipitation of 2200 mm. Usually, the driest months are July and August. The Montane forest is 1000 m above sea level - ($23^{\circ} 17'$ to $23^{\circ} 24'$ S and $45^{\circ} 03'$ to $45^{\circ} 11'$ W), has a tropical temperate climate, with mean annual precipitation around 2000 mm and a high fog frequency around 100 days per year (Rosado et al. 2010). All physiognomies are characterized as Ombrophylous Dense Atlantic Forest (broadleaf evergreen forest; Joly et al. 1999). The soils in both sites are considered as poor in basic cations and rich in aluminum concentration when compared to Amazon (Martins 2010). However, the soil at the Montane Forest is richer in aluminum and iron concentration and

shows higher cation exchange capacity (CEC), and nitrogen and carbon content (Martins 2010). On the other hand, the soil at the Lowland Forest shows more sand and clay and less silt than MF (Martins 2010).

Root Sampling and analysis

In each altitude, we collected samples in four one-hectare plots (divided in 100 sub-plots) belonging to the *Gradiente Funcional/BIOTA Project* whose main proposal is evaluate changes in forest composition, structure and functioning along the altitudinal variation (http://www2.ib.unicamp.br/projbiota/gradiente_funcional/index.html). In each plot we randomly chose 4 sub-plots for sampling and in each one, soil samples were taken from the following depths: 0-5, 5-10, 10-20 e 20-30 cm. The same procedure was repeated in the dry (August 2007) and wet season (December/January 2008), totalizing 128 soil samples per season. We used a soil corer with a diameter of 20 cm to collect samples at 0-5 cm, and a smaller diameter corer (10 cm) for the other depths. Samples were labeled, taken to laboratory and kept frozen until processing to extract fine roots. The total volume of each sample was measured with a plastic container. Fine roots were separated from soil using a semi-automatic root washer system built with buckets and hoses as described by Martins (2002). After that, samples were kept in alcohol 70% until separation in living and dead roots under magnifying glass, based on colour, root elasticity and the degree of cohesion of cortex, periderm and stele (Persson 1978).

We followed the protocol suggested by Bouma et al. (2000) to acquire better digital images used to estimate fine root length and root surface area. Fine roots were stained with methylen blue and placed on a transparent tray with a thin layer of water on a flatbed scanner to acquire 400dpi images (Bouma et al. 2000) (Figure 1). We used the

Rootedge software version 2.3 to obtain root length and root surface area (Kaspar & Ewing 1997; Himmelbauer et al. 2004). After scanning, roots were oven-dried for 72 h and FRB was determined as dry mass/area (g m^{-2}). For comparison with other datasets, we also estimated total FRB in the top 30cm of the soil in each site/season.

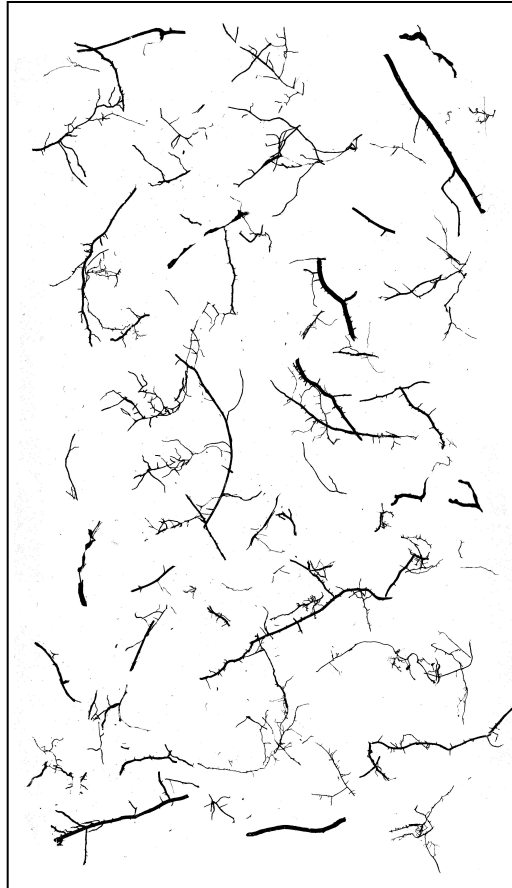


Figure 1. Digital image of fine roots stained with methylen blue used to estimate root length and surface area using *Rootedge* software version 2.3.

The RLD for each sample was calculated by dividing root length by volume of the sample (Soethe et al 2006). Depth distributions for each site were fitted to a model of vertical root distribution based on the asymptotic equation $Y = -1\beta^d$, where Y is the cumulative root fraction (a proportion between 0 and 1) from the soil surface to depth d

(in centimeters) and β is the fitted extinction coefficient (Gale & Grigal 1987). Since β is the fitted parameter, it provides a simple numerical index of rooting distribution (Gale & Grigal 1987) where high values correspond to a greater proportion of roots at depth and low values have a greater proportion of roots near the soil surface (Jackson et al. 1996).

Statistical Analyses

For each depth, significant differences of RLD, FRB and β between altitudes and seasons were assessed by Two-way ANOVA with *post hoc* Tukey's test.

Results

The Montane forest had the shallowest rooting profiles in the dry and wet seasons ($\beta=0.77$ and 0.56 , respectively), with 79.41% of roots occurring in the top 5 cm of soil in the dry season and 94.38% in wet season (Table 1). On the other hand, the Lowland forest showed $\beta=0.81$ and 0.74 , in dry and wet seasons, respectively, indicating the deepest rooting profiles with 77.49% of roots occurring in the top 5 cm of soil in the dry season and 84.01% in wet season (Table 1). From dry to wet season there was a trend of increase of shallow roots in both sites as indicated by the decrease in β values and % of roots occurring in the top 5 cm of soil.

Table 1. Mean values of $\beta \pm$ standard deviation for each site/season (associated R^2 values) according to the Gale and Grigal's model (1987) and percentage of FRB in upper 5 cm.

Season	Site	β	R^2	% Root biomass in upper 5 cm
Dry	Lowland	0.81 ± 0.06 a	0.75	77.49
	Montane	0.77 ± 0.11 a	0.77	79.41
Wet	Lowland	0.74 ± 0.09 a	0.77	84.01
	Montane	0.56 ± 0.07 b	0.60	94.38

The montane forest showed higher FRB in the 0-5 soil layer in both seasons and in the 5-10 layer in the dry season (Figure 2), while for others depths there were no differences between altitudes. Seasonal differences in FRB were observed only in the montane site in the 5-10 and 10-20 layers, with lower values in the wet season (Figure 2). The total FRB in the top 30cm of the soil in the dry and wet season, respectively: for the Lowland Forest 334.53 and 219.11 g m^{-2} and 875.22 and 451.04 g m^{-2} for the Montane Forest. At both altitudes and seasons, FRB was highest in the 0-5 layer (Figure 2) although higher values were observed at the Montane forest. The variation of FRB between altitudes in the 0-5 cm was 3.2 fold in the dry and 2.2 fold in the wet season. In the 5-10 cm in the dry season, the FRB variation between altitudes was 2.5 fold.

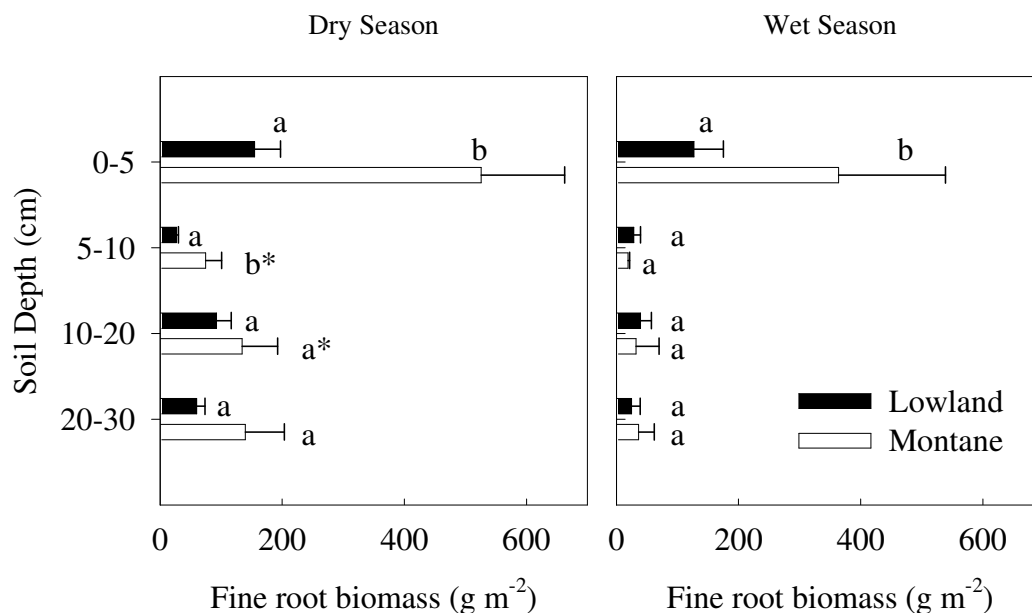


Figure 2. Variation of fine root biomass in soil profile, between altitudes and seasons. Lower case letters indicate significant differences between altitudes in each depth (student's t-test; $P < 0.05$); asterisks indicate significant differences between seasons in each depth (student's t-test; $P < 0.05$).

RLD was also highest in montane forest in the top 5cm of soil in both seasons where variation between altitudes was 4.7-fold in dry and 2.5-fold in wet season (Figure 3). Higher RLD values were also observed in montane forest in the 5-10 cm in dry (1.8-fold) and wet season (2.0-fold). In the 20-30 cm in the dry season, RLD was 3.2-fold higher than lowland forest (Figure 3). Seasonally, both altitudes showed higher values in the wet season only in the 0-5 cm layer (Figure 3).

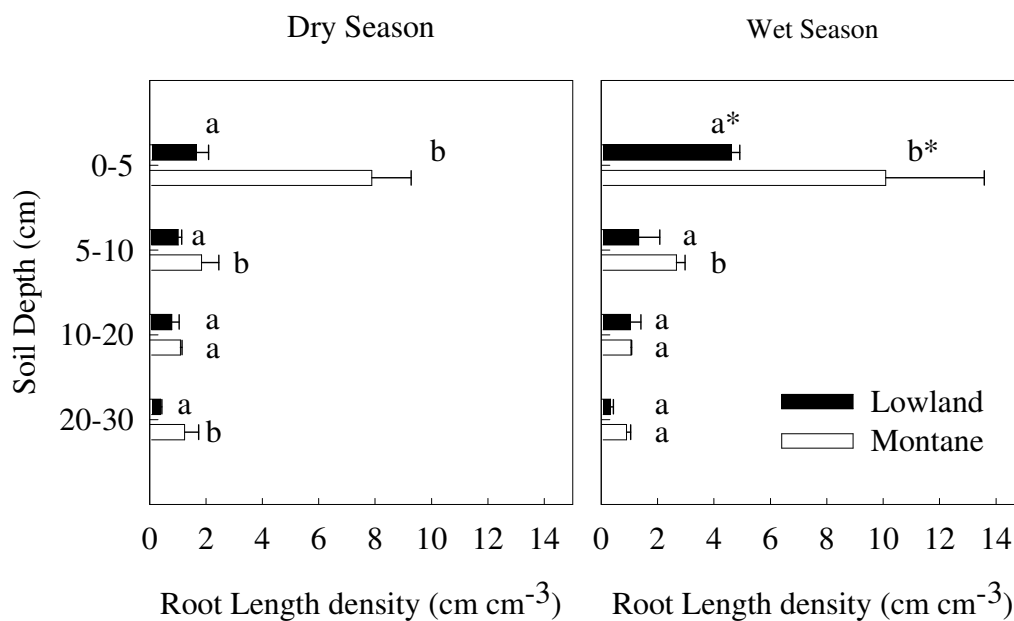


Figure 3. Variation of root length density in soil profile, between altitudes and seasons. Lower case letters indicate significant differences between altitudes in each depth (student's t-test; $P < 0.05$); asterisks indicate significant differences of altitude between seasons in each depth (student's t-test; $P < 0.05$).

Discussion

The higher values of RLD and FRB at the 0-5 cm layer at the Montane forest associated to the low β values indicate that the potential for the ability for nutrient and water uptake

is in the top soil. The higher investment in fine roots at Montane forests, especially in shallow soil layers, is probably a response to maximize nutrient uptake under the lower decomposition rates (Bruijnzeel & Veneklaas 1998). The higher investment and more superficial distribution of fine roots, especially at Montane forests, may improve nutrients uptake that are leached from the canopy (Stewart 2000), litterfall, stemflow and throughfall (Cavalier 1992). Our results are in accordance to those by Sousa Neto (2008) who found increases of FRB with altitude in shallow soil layers at the Atlantic Rain Forest. In fact, studies performed in our sites show that litter accumulation is higher and litterfall is lower at the Montane site, what is also related to the lower decomposition rates (Sousa Neto 2008; Martins 2010). The lower decomposition rates, the higher content of organic matter and the higher CEC at the Montane site (Martins 2010), indicates that plants are absorbing more organic forms of nitrogen what might be related to the higher investment in fine roots at 0-5cm (Näsholm et al. 1998; Näsholm et al. 2009).

Our FRB data in the top 30 cm (219.11- 875.22 g m⁻²) are within the range reported for other tropical forests from 150 to ~1100 g m⁻² (Cavelier et al. 1996; Herbert & Fownes 1999; Yavitt & Wright 2001; Hertel et al. 2003; Leuschner et al. 2007). In fact, Jackson et al. (1997) reported an average value of 330 g m⁻² for tropical forests. Unfortunately, we did not evaluate deeper soil layers below 30 cm due to shallow rock bed. However, the differential investment and vertical distribution in the top 30cm of soil between the Lowland and the Montane forest may be enough to promote a significant impact on plant water use, phenology and evapotranspiration. These questions, however, remain to be answered in future studies being conducted at the Atlantic rain forest.

It was not possible to evaluate if the higher RLD and FRB values observed at the Montane forest were due to high fine root production or high fine root longevity. Lower air and soil temperatures, as observed at the Montane forest (Sousa Neto 2008), are associated to lower respiration rates, what reduces root turnover (Gill & Jackson 2000) and increases root longevity (Graefe et al. 2008) maximizing water and nutrient acquisition (Eissenstat & Yanai 1997). However, it is important to take into account changes in fine root parameters along altitudinal gradients, associated to the altitudinal range evaluated. While our comparison was made between forests in ~100 and ~1000 m above sea level, the studies that did not detect any trends of fine root parameters investment along altitudinal gradients were performed in ranges from ~1000 to ~3000m (Graefe et al. 2008; Soethe et al. 2006). Thus, depending on the altitudinal range, factors such as oxygen deficiency, lower temperatures and reductions in trees size and species abundance might contribute to lower fine roots investment in higher altitudes (Leuschner et al. 2007; Graefe et al. 2008).

In our study, the differential investment in FRB and RLD between forests may also be associated to changes in forest structure, phytosociology and species composition as also observed by Leuschner et al. (2007). The higher FRB and RLD at the Montane forest may be related to the total stem density (ha^{-1}) which is higher at the Montane forest in comparison to the lowland forest (Alves et al. 2010). In addition, the high abundance of bamboos, that are present only at the Montane site (Padgurschi 2010) and are not considered in the total density, may also contribute to the higher FRB and RLD. In this case, we can not disregard the effect of anthropogenic disturbances on our results since

the Lowland forest experienced logging and different land uses what can reduce the stem density (Alves et al. 2010) and, consequently, promote reductions in FRB and RLD.

Although we did not find differences in the seasonal variation of FRB for each depth, except at the Montane forest in the depths of 5-10 and 10-20 cm, there was a trend of lower FRB in the wet season especially when considering the whole soil profile. According to Cavalier (1992), low FRB values are associated to more carbon allocation aboveground during the growing season what could decrease the fine root production. In addition, higher water availability during wet season might promote oxygen deficiency (Soethe et al. 2006; Graefe et al. 2008) what may contribute to accelerate root death and decomposition rates (Yavitt & Wright 2001). Our RLD data in both sites are similar to those observed by Soethe et al. (2006) along an altitudinal gradient in Ecuador. In our study, the increase of RLD from the dry to the wet season, especially at the top soil as also indicated by lower β values, may improve the nutrient and water uptake compensating the lower FRB values. In fact, it has been observed that the density of fine roots increased with soil water content and nutrient availability without changes in FRB (Yavitt & Wright 2001), what is also associated to changes in root anatomy to invest in length maintaining similar biomass (Hill et al. 2006).

In conclusion, despite limitations to our understanding about the possible causes to the increase in fine root parameters with altitude, it was possible to draw some important implications regarding the differences in FRB and RLD between altitudes. In addition, the differential fine roots investment between altitudes, within the context of resource use, should be considered in studies about plant establishment, seedling growth and population dynamics at the Atlantic Rain Forest. At the ecosystem level, taking into

account the fine root parameters and their vertical and seasonal variations may improve our understanding of the Atlantic rain forest functioning in terms of the biogeochemical fluxes and the carbon balance in a possible scenario of climate change and environmental changes.

Acknowledgements

We are grateful to Renato Belinello, Roseli Costa, Ewerton Manarin, Mauro Brum and Cleiton for help in field work and laboratory. Sincere thanks goes to Willis Gwenzi (University of Western Australia) for useful discussions and Luis Fernando Martins for help us with the root washing system. The authors were supported by grants from CNPq and the Biota-FAPESP Program - Projeto Temático Gradiente Funcional (03/12595-7). COTEC/IF 41.065/2005 and IBAMA/CGEN 093/2005.

References

- ALVES, L.F., VIEIRA, S.A., SCARANELLO, M.A., CAMARGO, P.B., SANTOS, F.A.M., JOLY, C.A., & MARTINELLI, L.A. 2010. Forest structure and live aboveground biomass variation along an elevational gradient of tropical Atlantic moist forest (Brazil). *Forest Ecology and Management* 260: 679-691.
- BOUMA, T.J., NIELSEN, K.L., & KOUTSTAAL, B. 2000. Sample preparation and scanning protocol for computerised analysis of root length and diameter. *Plant and Soil* 218: 185-196.
- BRUIJNZEEL, L.A. & VENEKLAAS, E.J. 1998. Climatic conditions and tropical montane forest productivity: the fog has not lifted yet. *Ecology* 79: 3-9.
- CAVELIER, J. 1992. Fine-root biomass and soil properties in a semideciduous and a lower montane rain forest in Panama. *Plant Soil* 142: 187-201.

- EISSENSTAT, D.M. & YANAI, R. D. 1997. The ecology of root life span. *Adv. Ecol. Res.* 27: 1–62.
- GALE, M.R. & GRIGAL, D.K. 1987. Vertical root distributions of northern tree species in relation to successional status. *Canadian Journal of Forest Research* 17: 829-834.
- GILL, R.A. & JACKSON, R.B. 2000. Global patterns of root turnover for terrestrial ecosystems. *New Phytologist* 147: 13–31.
- GORDON, W.S. & JACKSON, R.B. 2000. Nutrient concentrations in fine roots. *Ecology* 81: 275-280.
- GRAEFE, S., HERTEL, D. & LEUSCHNER, C. 2008. Estimating Fine Root Turnover in Tropical Forests along an Elevational Transect using Minirhizotrons. *Biotropica* 40: 536–542.
- HERBERT, D. A., & FOWNES, J. H. 1999. Forest productivity and efficiency of resource use across a chronosequence of tropical montane soils. *Ecosystems* 2:242–254.
- HERTEL, D., LEUSCHNER, C. & HÖLSCHER, D. 2003. Size and structure of fine root systems in old-growth and secondary tropical montane forests (Costa Rica). *Biotropica* 35: 143–153.
- HILL, J., SIMPSON, R., MOORE, A. & CHAPMAN, D. 2006. Morphology and response of roots of pasture species to phosphorus and nitrogen nutrition. *Plant and Soil* 286: 7-19.
- HIMMELBAUER, M.L., LOISKANDL, W. & KASTANEK, F. 2004. Estimating length, average diameter and surface area of roots using two different Image analyses systems. *Plant and Soil* 260: 111-120.

JACKSON, R., CANADELL, J., EHLERINGER, J.R., MOONEY, H.A., SALA, O.E. & SCHULZE, E.D. 1996. A global analysis of root distributions for terrestrial biomes. *Oecologia* 108: 389-411.

JACKSON, R.B., MOONEY, H.A. & SCHULZE, E.D. 1997. A global budget for fine root biomass, surface area, and nutrient contents. *Proceedings National Academy of Sciences* 94: 7362–7366.

JOLY, C.A., AIDAR, M.P.M., KLINK, C.A., MCGRAPH, D.G., MOREIRA, A.G., MOUTINHO, P., NEPSTAD, D.C., OLIVEIRA, A.A., POTT, A., & SAMPAIO, E.V.S.B. 1999. Evolution of the Brazilian phytogeography classification systems: implications for biodiversity conservation. *Ciência e Cultura (SBPC)* 51: 331-348.

KASPAR, T. C. & EWING, R. P. 1997. ROOTEDGE: Software for measuring root length from desktop scanner images. *Agron. J.* 89: 932–940.

LEUSCHNER, C., MOSER, G., BERTSCH, C., RÖDERSTEIN, M. & HERTEL, D. (2007) Large altitudinal increase in tree root/shoot ratio in tropical mountain forests of Ecuador. *Basic and Applied Ecology* 8: 219-230.

MARTINS, L.F.D.S. 2002. Configuração do sistema radicular das árvores de *Eucalyptus grandis* em resposta à aplicação de doses crescentes de bio-sólido. Dissertação de Mestrado, USP, Piracicaba, SP.

NEPSTAD, D.C., CARVALHO, C., DAVIDSON, E., JIPP, P.H., LEFEBVRE, P., NEGREIROS, G.H., DA SILVA, E.D., STONE, T.A., TRUMBORE, S.E. & VIEIRA, S.A. 1994. The role of deep roots in the hydrological and carbon cycles of Amazonian forests and pastures. *Nature* 372: 666-669.

- PADGURSCHI, M.C.G. 2010. Composição e estrutura arbórea de um trecho de Floresta Ombrófila Densa Montana com taquaras na Mata Atlântica. Dissertação de Mestrado, Unicamp, Campinas, SP.
- PERSSON, H. 1978. Root dynamics in a young Scots pine stand in central Sweden. *Oikos* 30: 508–519.
- ROSADO, B.H.P., OLIVEIRA, R.S. & AIDAR, M.P.M. 2010. Is leaf water repellency related to vapor pressure and crown exposure in tropical forests? *Acta Oecologica* 36: 645-649.
- SOETHE, N., LEHMANN, J. & ENGELS, C. 2006. The vertical pattern of rooting and nutrient uptake at different altitudes of a south Ecuadorian montane forest. *Plant and Soil* 286: 287-299.
- SOUSA NETO, E.R. 2008. Perdas de nitrogênio pela emissão de óxido nitroso (N₂O) e sua relação com a decomposição da serapilheira e biomassa de raízes na floresta de Mata Atlântica. Dissertação de Mestrado, USP, Piracicaba, SP.
- STEWART, C. G. 2000. A test of nutrient limitation in two tropical montane forests using root in growth cores. *Biotropica* 32: 369–373.
- WILLIAMS, M., MALHI, Y., NOBRE, A.D., RASTETTER, E.B., GRACE, J. & PEREIRA, M.G.P. 1998. Seasonal variation in net carbon exchange and evapotranspiration in a Brazilian rain forest: a modelling analysis. *Plant Cell and Environment* 21: 953-968.
- YAVITT, J.B. & WRIGHT, S.J. 2001. Drought and Irrigation Effects on Fine Root Dynamics in a Tropical Moist Forest, Panama. *Biotropica* 33: 421-434.

ZEPPEL, M.J.B., MURRAY, B.R., BARTON, C. & EAMUS, D. 2004. Seasonal responses of xylem sap velocity to VPD and solar radiation during drought in a stand of native trees in temperate Australia. *Functional Plant Biology* 31: 461-470.

ZOBEL, R.W., KINRAIDE, T.B. & BALIGAR, V.C. 2007. Fine root diameters can change in response to changes in nutrient concentrations. *Plant and Soil* 297: 243–254.



Original article

Is leaf water repellency related to vapor pressure deficit and crown exposure in tropical forests?

Bruno Henrique Pimentel Rosado^{a,b,*}, Rafael Silva Oliveira^b, Marcos Pereira Marinho Aidar^c^a Bolsista Doutorado/CNPq, Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, IB, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brazil^b Departamento de Biologia Vegetal, IB, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, CEP: 13083-970, Brazil^c Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Instituto de Botânica, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 April 2010

Accepted 5 October 2010

Available online 3 November 2010

Keywords:

Leaf morphological traits

Abaxial surface

Adaxial surface

Leaf wettability

Atlantic Rain forest

ABSTRACT

Environmental conditions can have major influences in shaping biophysical properties of leaf surfaces. In moist environments, high leaf water repellency (LWR) is expected because the presence of a water film on leaf surfaces can block stomatal pores, reduce the diffusion of CO₂, promote pathogen incidence, colonization of epiphylls and leaching of leaf nutrients. However, LWR can also increase in dry environments as a consequence of higher epicuticular wax deposition induced by high temperatures, high radiation loads and vapor pressure deficits (VPD), which could also lead to a high leaf mass per area (LMA). The aim of this study was to determine how LWR varies among tropical trees with contrasting crown exposures and subjected to distinct vapor pressure deficits at different altitudes in the Atlantic Rain Forest. We hypothesized that (i) LWR will be higher in overstory species because they are more frequently exposed to higher radiation and higher vapor pressure deficit; (ii) In the Montane Forest, LWR will be higher for overstory species in comparison to those in Lowland Forest because radiation and VPD increase with altitude; (iii) Overstory species will also show higher LMA in response to exposure to drier conditions. We measured LWR by observing angles of droplets on adaxial and abaxial leaf surfaces in five species co-occurring at lowland and a montane forest. LWR was positively related to crown exposure and VPD at both sites but not to LMA. LWR was significantly higher in the Montane forest (mean angle 66.25°) than in the Lowland forest (mean angle 61.33°). We suggest that atmospheric conditions associated with contrasting crown exposures may exert important controls over leaf surface properties involved in the repellence or direct absorption of water.

© 2010 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

1. Introduction

Leaf water repellency (LWR) is an important functional trait influencing plant performance in distinct habitats (Neinhuis and Barthlott, 1997; Holder, 2007a, 2007b). Different leaf structures that affect leaf surface roughness such as trichomes (Brewer et al., 1991), wax crystals, cuticular folds and epicuticular wax (Neinhuis and Barthlott, 1997) are responsible for variation in LWR. Since water can block stomatal pores and reduce the diffusion of CO₂ (Nobel, 1999), highly repellent leaf surfaces that minimize water bead formation on leaves can be beneficial by allowing gas exchange even under wet conditions (Smith and McClean, 1989; Ishibashi and Terashima, 1995; Shirtcliffe et al., 2006). Other

benefits conferred by high LWR in moist environments include reductions in pathogen incidence (Reynolds et al., 1989), colonization of epiphylls (Holder, 2007a), pollutant deposition (Cape, 1996) and leaching of leaf nutrients (De Luca D'oro and Trippi, 1987). At the ecosystem level, high LWR can affect the water balance by increasing the water input through stemflow, fog precipitation and throughfall (Holder, 2007b). In addition to LWR, other leaf traits such as leaf angle (Holder, 2007a) and leaf shape (drip-tips) (Panditharathna et al., 2008) can promote water shedding from leaf surfaces in wet environments.

Dry conditions, especially in open habitats, can also select for leaves with high LWR (Holder, 2007a, 2007b). Epicuticular wax deposition increases on leaves under high temperatures, radiation loads, vapor pressure deficits and water deficits, as a mechanism to minimize water losses and overheating by increasing reflectance (Meinzer, 1982; Sánchez et al., 2001; Mohammadian et al., 2007). In addition, wax layers and other structures such as trichomes, thick cell walls, fibers, sclereids and thick cuticles have been associated with a high leaf mass per area (LMA) in species occurring in

* Corresponding author. Departamento de Biologia Vegetal, IB, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, CEP: 13083-970, Brazil. Tel.: +55 19 35216175; fax: +55 19 35216374.

E-mail address: brunorosado@gmail.com (B.H.P. Rosado).

nutrient and/or water-limited environments (Witkowski and Lamont, 1991; Baldini et al., 1997; Niinemets, 2001). For plants occurring under stressful conditions, high LMA has been reported as a common trait that improves nutrient and water use efficiency (Loveless, 1961; Chabot and Hicks, 1982; Niinemets, 2001), protection from solar radiation (Jordan et al., 2005) and protection against herbivory (Turner, 1994).

Increases in radiation, temperature and vapor pressure deficit along altitudinal gradients (Körner, 2007) can induce modifications in leaf morphological traits (Grubb, 1977; Velázquez-Rosas et al., 2002). In a broad comparison among tropical forests under contrasting climates, Holder (2007a, 2007b) showed that leaves in dry tropical forest tend to have higher LWR values than at Montane sites. In addition, variation in leaf traits in dry and moist forests seems to be related to crown exposure (CE) reflecting the way species cope with distinct abiotic factors (Poorter, 2009). Thus, LWR affects plant responses by (i) increasing water use efficiency (Smith and McClean, 1989; Pandey and Nagar, 2002), (ii) minimizing risks of ice formation on leaves (Aryal and Neuner, 2010) and (iii) promoting water input in soils of dry sites (Holder, 2007a). Therefore, many authors consider LWR as a functional trait that might promote an increase in plant performance in dry and open habitats (Pandey and Nagar, 2002; Holder, 2007a), and along altitudinal gradients from tropical to alpine zones (Aryal and Neuner, 2010).

Along the Brazilian coast, the Atlantic Rain Forest is an ideal ecosystem to test hypotheses about environmental influences on LWR because it provides gradients of abiotic factors associated with forest structure and altitudinal variations. Here, we addressed the following questions: will species that co-occur at different altitudes and with different crown exposures (CE) show different LWR? Taking into account the vertical gradient of abiotic factors, does LWR vary according to the CE of the species within the forest? What is the relationship between LMA and LWR? We hypothesized that (i) Despite the lower evaporative demand in shaded environments, LWR will be greater in overstory species because they are more frequently exposed to direct radiation and higher vapor pressure deficit; (ii) At the Montane Forest, LWR will be greater for overstory species in comparison to those in Lowland Forest because total radiation and VPD increases with altitude; (iii) As well as high LWR, overstory species will show higher LMA in response to drier conditions.

2. Material and methods

2.1. Study site and species

Our study was conducted in lowland and montane forests in the Serra do Mar State Park, which is the largest protected area of

Atlantic Rain Forest and covers 315,000 ha in the north of São Paulo state, Brazil. The Lowland forest is 100 m above sea level (23°31'–23°34'S and 45°02'–45°05'W) and has a tropical climate without a marked dry season and a mean annual precipitation of 2200 mm. Usually, the driest months are July and August. The Montane forest is 1000 m above sea level (23°17'–23°24'S and 45°03'–45°11'W) and has a tropical temperate climate. Mean annual precipitation is approximately 2000 mm and frequent fog events occur in comparison to the Lowland forest. All physiognomies are characterized as broadleaf evergreen forests.

We classified the crown exposure (CE) of trees according to Clark and Clark (1992), where the crowns are classified according to an illumination index from 1 (when the tree does not receive any direct light) to 5 (emergent crown, fully exposed) (Table 1). The species were selected according to the following criteria: co-occurrence at both sites, species with different canopy position (overstory, intermediary and understory) and species belonging to different families to avoid phylogenetic effects. We studied five species co-occurring at the Lowland and at the Montane Forest at the Atlantic Rain Forest to assess whether species with contrasting crown exposures would show distinct LWR. The following species were chosen: *Hyeronima alchorneoides* Allemão (Phyllanthaceae), *Alchornea triplinervia* (Spreng.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae), *Mollinedia schottiana* (Spreng.) Perkins (Monimiaceae); *Euterpe edulis* Mart. (Arecaceae) and *Rustia formosa* Klotzsch (Rubiaceae). For simplicity, we will refer to each species by their generic names.

2.2. Leaf water repellency and leaf mass per area

In February 2009, seventy leaves for each species, from ten individuals per species, were collected for leaf water repellency measurements, which were made on the abaxial and adaxial leaf surfaces for each species and estimated as the contact angle (θ) between a water droplet and the leaf surface (Holder, 2007a). After the leaf surface was dried with an absorbent filter paper, the leaf was pinned onto a styrofoam platform to flatten the leaf surface and expose the leaf's horizontal profile. A 10- μ l droplet of distilled water was placed onto the leaf surface using a Micropipette (P100, Pipetman, Gilson SAS, Villiers-le-Bel, France) to represent a rain-drop as described by Holder (2007a). A photograph of a profile of the water droplet resting on the leaf surface was taken with a digital camera Nikon Cool Pix P80 (135MM F/2.8–4.5 AF – 10 Megapixel; Nikon Corporation, Tokyo, Japan). From the digital image, the θ of the leaf surface and the line tangent to the droplet through the point of contact was measured using the free software ImageJ, version 1.37, (National Institutes of Health, USA, <http://www.rsdb.info.nih.gov/ij/>). The θ was measured relative to the horizontal

Table 1
The mean and standard error (SE) of leaf water repellency (in degrees) of adaxial and abaxial surfaces, leaf mass per area (LMA) for each species within each site and crown exposure (CE). Adaxial and abaxial leaf surfaces were significantly different at $P < 0.05$ (*); $P < 0.01$ (**); $P < 0.001$ (***) based on t test. Bold numbers indicate on which leaf surface the leaf water repellency was higher. Different letters indicate significant differences among species within each site (ANOVA, $P < 0.05$).

Site	Species	LWR Adaxial		LWR Abaxial		LMA (g m ⁻²)		Crown Exposure	
		Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE	Mean	SE
Lowland Forest	Alchornea***	62.17	1.54	68.61	1.35	75.27 ab	12.04	4.5	0.19
	Euterpe*	51.21	1.76	44.68	1.21	80.11 ab	7.7	3.01	0.30
	Hyeronima**	69.83	2.38	77.92	2.66	82.38 b	6.24	5.0	0
	Mollinedia	47.22	2.34	50.03	1.71	48.09 a	4.47	3.04	0.07
	Rustia ***	64.73	2.35	50.1	0.36	58.35 ab	7.06	4.0	0.25
Montane Forest	Alchornea*	63.88	2.27	69.88	2.36	86.62 a	4.91	4.96	0.04
	Euterpe**	61.27	1.9	51.47	1.71	88.16 a	16.07	3.0	0.20
	Hyeronima	74.95	2.55	70.47	2.04	78.17 a	3.44	4.94	0.04
	Mollinedia	59.19	2.05	60.74	2.26	61.33 a	6.11	3.0	0.15
	Rustia	65.89	2.79	63.57	1.8	73.83 a	3.96	4.0	0.28

leaf surface. Based on previous studies, leaves surfaces are classified as super-hydrophilic ($\theta < 40^\circ$), highly wettable ($40^\circ < \theta < 90^\circ$), wettable ($90^\circ < \theta < 110^\circ$), non-wettable ($110^\circ < \theta < 130^\circ$), highly non-wettable ($130^\circ < \theta < 150^\circ$) and super-hydrophobic ($\theta > 150^\circ$) (Smith and McClean, 1989; Aryal and Neuner, 2010).

All leaves were digitized (100 dpi) to estimate leaf area and leaf circularity using ImageJ, version 1.37, (National Institutes of Health, USA, <http://www.rsd.info.nih.gov/ij/>). Leaves were then oven-dried for at least 48 h at 70°C and weighed. From these data the LMA (g m^{-2}) was calculated as leaf mass per unit leaf blade area.

2.3. Micrometeorological variables

At each altitude three temperature and relative humidity sensors (HOBO, Onset Computer Corporation), set to gather data every 30 min, were placed at different heights at approximately 20 m (canopy), 10 m (intermediary) and 2 m (understory) from the ground at both sites. These data were used to calculate atmospheric vapor pressure deficit (VPD). Mean values for each height and site were calculated from a temporal series of three hundred days. We considered zero VPD data, in non-rainfall periods, as a proxy to estimate the number of days with fog events in each site. Global solar radiation (MJ m^{-2}) data in both sites were obtained from global solar radiation sensors (MODEL 200SA Pyranometer, Microcom Design Inc, Hunt Valley, MD, USA). At the Lowland forest, the sensor was placed at 2 m height in a site clearly unobstructed for daylight conditions. At the Montane forest, it was necessary to place the sensor above the canopy, at 35 m height, for unobstructed daylight conditions. The global solar radiation data were also available as a dataset provided by the Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPTEC/INPE) website (<http://www.cptec.inpe.br/>). The mean values correspond to a one year period of daily integral of radiation energy that we used to calculate monthly averages.

2.4. Statistical analysis

Linear regressions were performed between LWR on both leaf faces and mean VPD, CE and LMA. Tests of significance of differences between means were performed for each species within study sites to determine differences between the LWR of adaxial and abaxial surfaces. Nested ANOVA was used to test whether there were significant differences in LWR in the five species and between the two sites. Species were nested within study sites, leaves were nested within species and leaf surfaces were nested within leaves (Holder, 2007a, 2007b). When analysis of variance showed significant differences among species, we used Tukey HSD multiple comparison tests to determine which pairs of species and leaf faces exhibited significant differences (Holder, 2007a, 2007b). We used paired *t*-tests to compare VPD and solar radiation between sites. All data analysis were done using the R software, version 2.11.1, 2010, <http://www.R-project.org>.

3. Results

Global solar radiation was significantly higher in the Montane (12.0 MJ m^{-2}) in comparison to the Lowland forest (8.6 MJ m^{-2}) throughout the year (paired *t* test = -4.60 ; $\text{df} = 13$; $P < 0.0001$). Mean VPD was also higher in the Montane forest (0.21 kPa) than in the Lowland forest (0.15 kPa; paired *t* test = -5.72 ; $\text{df} = 13$; $P < 0.0001$) and increased from the understory to the overstory in both sites (Fig. 1). Irrespective of day or night, the stratification of VPD in the canopy profile did not change along the seasons (data not shown). Using zero VPD data, we found that fog occurred during 100 days in the Montane Forest and 34 days per year at the

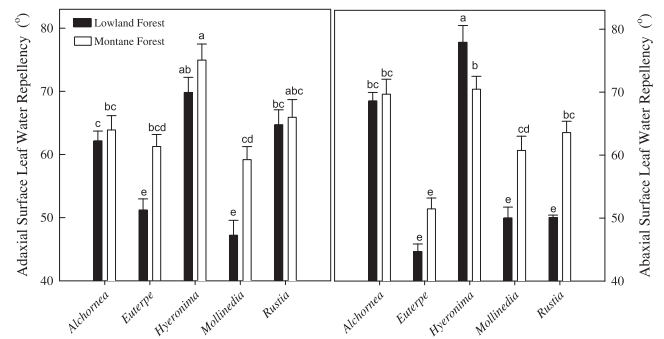


Fig. 1. Comparison of leaf water repellencies between Lowland and Montane Forest for each leaf surface. Different letters indicate significant differences among species for each leaf surface (Tukey HSD multiple pairwise comparison, $P < 0.05$).

Lowland Forest. Fog duration was also higher at the Montane Forest, as zero VPD data represented 26.4% of the whole VPD dataset (registered every 30 min) at this site and 4.4% at the Lowland Forest during a year.

We found differences in LWR between sites, species, leaves and leaf faces (Table 2). LWR showed significant differences between species and between adaxial and abaxial leaf surfaces (Table 2, Fig. 1). Leaf water repellency was significantly higher at the Montane forest (mean angle 66.25°) than Lowland forest (mean angle 61.33° ; Table 2). In the Lowland Forest, *Euterpe* and *Rustia* showed higher LWR of the adaxial surfaces while *Alchornea* and *Hyeronima* had higher abaxial LWR (Table 1, Fig. 1). In the Montane Forest only *Euterpe* and *Alchornea* showed differences between leaf surfaces as also observed in the Lowland site. At both altitudes, LWR did not show a clear trend of differences between leaf faces (Table 1).

Within species, LWR of each leaf surface did not vary for canopy species between altitudes in most cases (Fig. 1). However, *Euterpe*, *Mollinedia* and *Rustia* had significant lower LWR in the Lowland Forest especially on the abaxial surfaces (Fig. 1). In general, the overstory species had higher LWR on both leaf faces and at both altitudes (Fig. 1). LWR of the adaxial surface was positively related to CE ($R^2 = 0.89$, $P < 0.05$) and VPD ($R^2 = 0.87$, $P < 0.05$) only in the Lowland Forest (Fig. 2). For the abaxial surface, LWR was positively associated with CE in Lowland ($R^2 = 0.84$, $P < 0.05$) and with CE and VPD in Montane Forest ($R^2 = 0.82$, $P < 0.05$; $R^2 = 0.77$, $P < 0.05$, respectively; Fig. 2). For our study sites, the vertical stratification of daytime and nighttime VPD were similar, therefore the relationships between daylight and nighttime VPD with LWR were not different. The LMA variation among species was 1.41-fold for the Lowland site and 1.44-fold for the Montane site. In the Lowland site LMA was highest in *Hyeronima* while *Mollinedia* had the lowest values (Table 1). Despite the lack of significant differences among species in the Montane site, *Rustia* and *Mollinedia*, showed a trend of increase of LMA from the Lowland to the Montane forest. For both leaf faces in both sites, the relationship between LWR and LMA was not significant.

Table 2
Summary of results of the Nested ANOVA for each level.

	df	SS	MS	F
Site	1	5077	5076.9	1880.88***
Site : Species	8	52417	6552.1	2427.4***
Site : Species : Leaf	690	90491	235.7	87.304*
Site : Species : Leaf : Leaf Face	700	24113	61.5	22.789*

* $P < 0.05$; *** $P < 0.0001$.

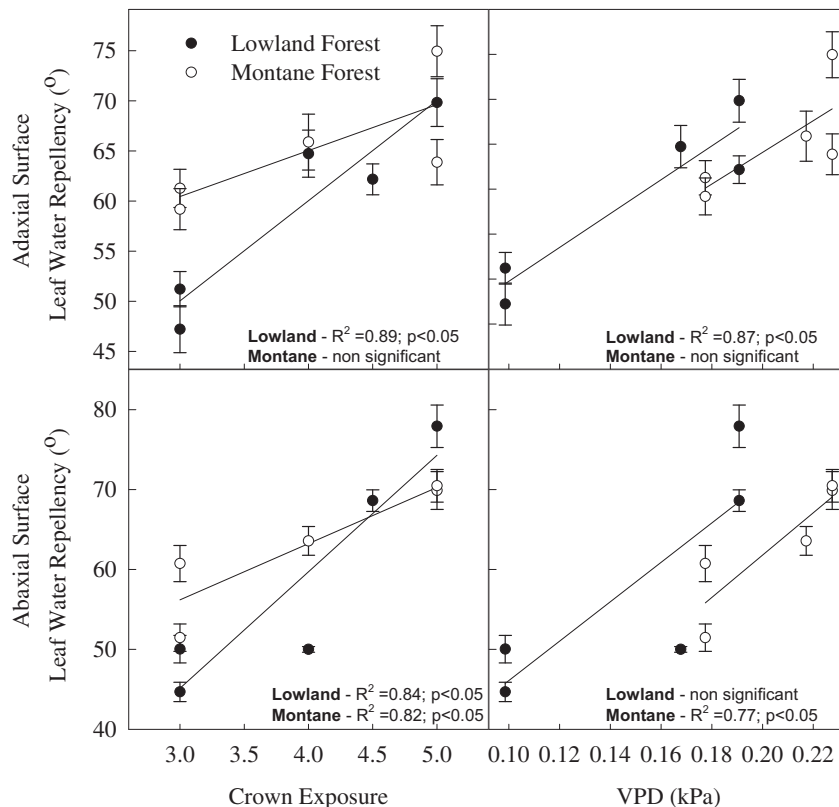


Fig. 2. Relationships between adaxial surface LWR, crown exposure and VPD in the Lowland ($y = 19.50 + 10.11x$ and $y = 30.98 + 187.89x$, respectively) and Montane forest (non-significant relationships) and between abaxial surface LWR, crown exposure and VPD in the Lowland ($y = 0.23 + 14.84x$, non-significant, respectively) and Montane forest ($y = 34.51 + 7.21x$, $y = 8.89 + 264.51x$, respectively).

4. Discussion

Leaf trait variation from understory to canopy and along altitudinal gradients have been consistently described in the literature (Williams et al., 1989; Witkowski and Lamont, 1991; Niinemets, 2001; Panditharathna et al., 2008; Beaumont and Burn, 2009; Aryal and Neuner, 2010). Our findings are similar to those observed by Aryal and Neuner (2010) where LWR increases along an altitudinal gradient and decreases from the canopy to the understory. However, while our study was performed at tropical forests located at 100 and 1000 m above the sea level, their study comprised a different range of elevation (from 186 to 5268 m above sea level) and ecosystems (from tropical to alpine climatic zones) in the Central Himalayas, Nepal. In their study, the functional meaning of higher LWR, considered as highly non-wettable ($130^\circ < \theta < 150^\circ$), was preferentially related to avoidance of ice formation that could cause damage to leaf tissues in plants frequently exposed to freezing temperatures. In contrast, our LWR data (from 44.68° to 77.92°) are within the range of highly wettable leaves as observed for other tropical environments (Holder, 2007a; Aryal and Neuner, 2010). Despite the small range of variation of LWR in our study sites, we showed that CE and VPD were positively related to LWR, suggesting that exposition to drier conditions might stimulate epicuticular wax exudation from epidermic and guard cells (Meinzer, 1982; Sánchez et al., 2001; Mohammadian et al., 2007). Thus, even subtle increases in LWR through wax deposition could minimize sharp declines in leaf water potential, strong stomatal closure and decreases in photosynthesis (Myers et al., 1987; Santiago et al., 2000; Jordan et al., 2005; Motzer et al., 2005).

We found that LWR was also higher for overstory species. Similarly, wetness on leaf surfaces decreases from understory to

canopy in montane tropical forests in Colombia as a consequence of low relative humidity and high radiation in the canopy (Letts and Mulligan, 2005). In that study, Letts and Mulligan (2005) found that at 10 m height, mean wetness on leaf surfaces is around 14%, suggesting that water beads do not form very frequently on exposed leaves. This finding reinforces the view that high LWR might be related to factors different from those exclusively related to avoidance of leaf wetting on exposed leaves. Additionally, higher LWR has been reported for drier sites (Holder, 2007a, 2007b) and in plants occurring in more open habitats (Pandey and Nagar, 2002; Aryal and Neuner, 2010) where leaf wetting is less common. In contrast to studies where changes in leaf structures in response to environmental conditions (Meinzer, 1982; Baldini et al., 1997; Sánchez et al., 2001; Jordan et al., 2005; Mohammadian et al., 2007) lead to alterations in LWR (Neinhuis and Barthlott, 1997), we did not find any relationship between LMA and LWR. LMA is the product of different structures such as thick cell walls, fibers and sclereids (Witkowski and Lamont, 1991; Baldini et al., 1997; Niinemets, 2001), which may not affect the biophysical characteristics of leaf surfaces, and therefore LWR.

There is increasing evidence to show that when a leaf gets wet, water might be either repelled or directly absorbed (Burgess and Dawson, 2004; Oliveira et al., 2005; Zimmermann et al., 2007; Simonin et al., 2009). Leaf water uptake (LWU) seems to be a common mechanism among terrestrial plants that might contribute positively to the maintenance of key physiological processes. Plants that are able to absorb water via leaves during periods of soil water deficit may increase their leaf water content, leaf water potential, stomatal conductance and rates of gas exchange (Burgess and Dawson, 2004; Simonin et al., 2009; Burkhardt, 2010). In addition, Simonin et al. (2009) suggested

that the negative effect of low LWR would be short lived, since the positive physiological effects (e.g. increased rates of gas exchange) take place after leaf surfaces have dried. However, the benefits associated with high LWU capacity will depend on the frequency of events promoting leaf wettability and soil water availability.

In conclusion, we showed that LWR varied according to crown exposure and VPD at both sites, supporting the well-observed trends of leaf trait variation along environmental gradients. However, it is important to highlight the role of CE to changes in LWR. Our results suggest that the functional significance of LWR is related to different CE and to different atmospheric conditions which plants are subjected to. Thus, further studies considering leaf trait variation along altitudinal gradients should consider differences associated with strata position and crown exposure. Additionally, much larger datasets are necessary to elucidate the tradeoffs between the repellent versus absorptive abilities of leaf surfaces and their interplay with other leaf traits and atmospheric conditions.

Acknowledgements

We are grateful to Pedro Cavalin, Giseli Areias and Amanda Martins for their help in fieldwork. We thank Dr. Curtis Holder for helping us with the method to estimate leaf water repellency and Dr. Erik Veneklaas for useful discussions. Sincere thanks goes to Elizabeth McLean (University of Western Australia), Dr. Eduardo Arcoverde de Mattos and two anonymous reviewers for critical reading and suggestions. The authors were supported by grants from CNPq and the Biota-FAPESP Program – Projeto Temático Gradiente Funcional (03/12595-7). COTEC/IF 41.065/2005 and IBAMA/CGEN 093/2005.

References

- Aryal, B., Neuner, G., 2010. Leaf wettability decreases along an extreme altitudinal gradient. *Oecologia* 162, 1–9.
- Baldini, E., Facini, O., Nerozzi, F., Rossi, F., Rotondi, A., 1997. Leaf characteristics and optical properties of different woody species. *Trees* 12, 73–81.
- Beaumont, S., Burn, K.C., 2009. Vertical gradients in leaf trait diversity in a New Zealand forest. *Trees* 23, 339–346.
- Brewer, C.A., Smith, W.K., Vogelmann, T.C., 1991. Functional interaction between leaf trichomes, leaf wettability and the optical properties of water droplets. *Plant, Cell and Environment* 14, 955–962.
- Burgess, S.S.O., Dawson, T.E., 2004. The contribution of fog to the water relations of *Sequoia sempervirens* (d. Don): foliar uptake and prevention of dehydration. *Plant, Cell and Environment* 27, 1023–1034.
- Burkhardt, J., 2010. Hygroscopic particle on leaves: nutrients or desiccants? *Ecological Monographs* 80, 369–399.
- Cape, D.J., 1996. Surface wetness and pollutant deposition. In: Kerstiens, G. (Ed.), *Plant Cuticles: An Integrated Approach*. Bios Scientific Publ., Oxford, pp. 283–300.
- Chabot, B.F., Hicks, D.J., 1982. The ecology of leaf life spans. *Annual Review of Ecology and Systematics* 13, 229–259.
- Clark, D., Clark, D., 1992. Life history diversity of canopy and emergent trees in a neotropical rain forest. *Ecological Monographs* 62, 315–344.
- De Luca D'oro, G.M., Trippi, V.S., 1987. Effect of stress conditions induced by temperature, water and rain on senescence development. *Plant Cell Physiology* 28, 1389–1396.
- Grubb, P.J., 1977. Control of forest growth and distribution on wet tropical mountains: with special reference to mineral nutrition. *Annual Review of Ecology and Systematics* 8, 83–107.
- Holder, C., 2007a. Leaf water repellency as an adaptation to tropical montane cloud forest environments. *Biotropica* 39, 767–770.
- Holder, C., 2007b. Leaf water repellency of species in Guatemala and Colorado (USA) and its significance to forest hydrology studies. *Journal of Hydrology* 336, 147–154.
- Ishibashi, M., Terashima, I., 1995. Effects of continuous leaf wetness on photosynthesis: adverse aspects of rainfall. *Plant, Cell and Environment* 18, 431–438.
- Jordan, G.J., Dillon, R.A., Weston, P.H., 2005. Solar radiation as a factor in the evolution of scleromorphic leaf anatomy in Proteaceae. *American Journal of Botany* 92, 789–796.
- Körner, C., 2007. The use of 'altitude' in ecological research. *Trends in Ecology and Evolution* 22, 569–574.
- Letts, M.G., Mulligan, M., 2005. The impact of light quality and leaf wetness on photosynthesis in north-west Andean tropical montane cloud forest. *Journal of Tropical Ecology* 21, 549–557.
- Loveless, A.R., 1961. A nutritional interpretation of sclerophylly based on differences in the chemical composition of sclerophyllous and mesophytic leaves. *Annals of Botany* 25, 169–184.
- Meinzer, F.C., 1982. The effect of vapor pressure on stomatal control of gas exchange in Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) saplings. *Oecologia* 54, 236–242.
- Mohammadian, M.A., Watling, J.R., Hill, R.S., 2007. The impact of epicuticular wax on gas-exchange and photoinhibition in *Leucadendron lanigerum* (Proteaceae). *Acta Oecologica* 31, 93–101.
- Motzer, T., Munz, N., Küppers, M., Schmitt, D., Anhu, D., 2005. Stomatal conductance, transpiration and sap flow of tropical montane rain forest trees in the southern Ecuadorian Andes. *Tree Physiology* 25, 1283–1293.
- Myers, B.J., Robichaux, R.H., Unwin, G.L., Craig, I.E., 1987. Leaf water relations and anatomy of a tropical rainforest tree species vary with crown position. *Oecologia* 74, 81–85.
- Neinhuis, C., Barthlott, W., 1997. Characterization and distribution of water-repellent, self-cleaning plant surfaces. *Annals of Botany* 79, 667–677.
- Niinemets, Ü., 2001. Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area, density, and thickness in trees and shrubs. *Ecology* 82, 453–469.
- Nobel, P., 1999. *Physicochemical and Environmental Plant Physiology*, second ed. Academic Press, San Diego, California.
- Oliveira, R.S., Dawson, T., Burgess, S.S.O., 2005. Evidence for direct water absorption by the shoot of the desiccation-tolerant plant *Vellozia flavicans* in the savannas of central Brazil. *Journal of Tropical Ecology* 21, 585–588.
- Pandey, S., Nagar, P.K., 2002. Leaf surface wetness and morphological characteristics of *Valeriana jatamansi* grown under open and shade habitats. *Biologia Plantarum* 45, 291–294.
- Panditharathna, P.A.K.A.K., Singhakumara, B.M.P., Griscom, H.P., Ashton, M.S., 2008. Change in leaf structure in relation to crown position and size class for tree species within a Sri Lankan forest. *Botany* 86, 633–640.
- Poorter, L., 2009. Leaf traits show different relationships with shade tolerance in moist versus dry tropical forests. *New Phytologist* 181, 890–900.
- Reynolds, K.M., Madden, L.V., Richard, D.L., Ellis, M.A., 1989. Splash dispersal of *Phytophthora cactorum* from infected strawberry fruit by simulated canopy drip. *Phytopathology* 79, 447–454.
- Santiago, L.S., Goldstein, G., Meinzer, F.C., Fownes, J.H., Mueller-Dombois, D., 2000. Transpiration and forest structure in relation to soil waterlogging in a Hawaiian montane cloud forest. *Tree Physiology* 20, 673–681.
- Sánchez, F.J., Manzanares, M., De Andrés, E.F., Tenorio, J.L., Ayerle, L., 2001. Residual transpiration rate, epicuticular wax load and leaf colour of Pea plants in drought conditions. Influence on harvest index and canopy temperature. *European Journal of Agronomy* 15, 57–70.
- Simonin, K.A., Santiago, L.S., Dawson, T.E., 2009. Fog interception by *Sequoia sempervirens* (D. Don) crowns decouples physiology from soil water deficit. *Plant, Cell and Environment* 32, 882–892.
- Shirtcliffe, N.J., Pyatt, F.B., Newton, M.I., Mchale, G., 2006. A lichen protected by a super-hydrophobic and breathable structure. *Journal of Plant Physiology* 163, 1193–1197.
- Smith, W.K., McClean, T.M., 1989. Adaptive relationship between leaf water repellency, stomatal distribution, and gas exchange. *American Journal of Botany* 76, 465–469.
- Turner, I.M., 1994. Sclerophylly: primarily protective? *Functional Ecology* 8, 669–675.
- Velázquez-Rosas, Meave, J., Vázquez-Santana, S., 2002. Elevational variation of leaf traits in montane rain forest tree species at la chinantla, Southern Mexico. *Biotropica* 34, 534–546.
- Williams, K., Field, C.B., Mooney, H.A., 1989. Relationships among leaf construction cost, leaf longevity, and light environment in rain-forest plants of the genus *Piper*. *American Naturalist* 133, 198–211.
- Witkowski, E.T.F., Lamont, B.B., 1991. Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia* 88, 486–493.
- Zimmermann, D., Westhoff, M., Zimmermann, G., Geßner, P., Gessner, A., Wegner, L.H., Rokitta, M., Ache, P., Schneider, H., Vázquez, J.A., Kruck, W., Shirley, S., Jakob, P., Hedrich, R., Bentrup, F.-W., Bamberg, E., Zimmermann, U., 2007. Foliar water supply of tall trees: evidence for mucilage-facilitated moisture uptake from the atmosphere and the impact on pressure bomb measurements. *Protoplasma* 232, 11–34.

Capítulo 3

Diversity in nighttime transpiration behavior of woody species at the Atlantic Rain Forest, Brazil

Bruno H. P. Rosado^{1,4}; Stephen S. O. Burgess^{2,3}; Rafael S. Oliveira⁴ & Marcos P. M. Aida⁵

⁽¹⁾Bolsista Doutorado/CNPq. Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, IB, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brazil.

⁽²⁾Faculty of Agriculture, Food and Natural Resources, The University of Sydney, Sydney, Australia.

⁽³⁾School of Plant Biology, The University of Western Australia, Perth, Australia

⁽⁴⁾Departamento de Biologia Vegetal, IB, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, SP, Brazil.

⁽⁵⁾Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Instituto de Botânica, SP, Brazil.

^(*)Corresponding author: Departamento de Biologia Vegetal, IB Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, CEP: 13083-970, Brazil; e-mail: brunorosado@gmail.com; fax: ++ 55 (0)19 35216374; tel: ++ 55 (0)19 35216175.

Word count

Main body of text: 3490 words

Introduction: 804 words

Material and Methods: 795 words

Results: 383 words

Discussion: 1508 words

Acknowledgments: 75

The manuscript contains 04 figures and 01 Supporting Information Table S1.

Summary

- Nighttime transpiration (NT) has been documented in many plant species but we do not yet have a thorough understanding of abiotic controls of this phenomenon. In this study we examined interspecific variation in NT behaviors in plants with distinct crown exposures and occurring at different altitudes in the Brazilian Atlantic Rainforest. We hypothesized that understory species in Lowland and Montane forests will have quite uniform, low NT owing to the buffered within canopy microclimate; NT will be higher for overstory species which are more coupled to drier, windier atmospheric conditions and NT will be higher for Montane species, where VPD and incident solar radiation are higher.
- To this end, we used the heat ratio method to make measurements of sap flow in species occurring in both altitudes.
- NT did indeed show differences between altitude and species. Of most significance was prominent non-linear relationship between the NT and VPD, observed at the Montane site.
- This non-linearity is in contrast to most previously published NT kinetics and suggests strong physiological or abiotic controls on NT rates. We discuss thermodynamic aspects relevant to non-linear NT kinetics and also the wider implications of diversity of NT in complex forest stands.

Keywords: nighttime transpiration, cooling effect, xylem refilling, sensible heat flux, latent heat flux, sap flow, micrometeorology, Atlantic rain forest

Introduction

Transpiration by plants follows a force-flux relationship that is shaped by the ability of a plant's transport system to conduct water. Plants can modify their hydraulic conductivity throughout the entire transport system and perhaps the strongest and most dynamic control is that of stomatal aperture which affects conductance to water vapor: understanding stomatal behavior in response to environmental conditions is key to understand variation on plant water fluxes (Cowan & Farquhar, 1977; Jones & Sutherland, 1991; Cruiziat *et al.*, 2002). A commonly known relationship between transpiration and vapor pressure deficit (VPD) is a non-linear saturating response of daytime transpiration to VPD because of decreases in stomatal conductance as a response to a drying atmosphere (Jones & Sutherland, 1991; Cruiziat *et al.*, 2002). Whilst daytime transpiration dynamics are quite well studied, only recently did attention turn to nighttime transpiration (NT).

NT has been described for quite a few plant species from contrasting environments (Donovan *et al.*, 2001; Dawson *et al.*, 2007; Snyder, 2008; Christman, 2008) and whilst generally lower in magnitude relative to daytime transpiration it is none-the-less significant enough for potential impacts on whole-plant water relations and ecosystem hydrology (Dawson *et al.*, 2007; Wood *et al.*, 2008). Functional consequences of NT include pre-dawn disequilibrium, increases in oxygen supply (Daley & Phillips, 2006) and facilitation of bulk flow of water to the roots overnight, promoting nutrient uptake (Donovan *et al.*, 2001, Snyder *et al.*, 2003). Although little is known about the controls of NT, a strongly linear positive relationship between sapflow and VPD has been documented in several ecosystems, suggesting that VPD is the most important

environmental driving force for nocturnal water loss (Fisher *et al.*, 2007; Dawson *et al.*, 2007).

In tropical forests, small-scale changes in abiotic factors such as VPD, air temperature and solar radiation are common due to the high heterogeneity of the canopy structure, topography, and wind patterns (Motzer, 2005). Thus, even in short horizontal and altitudinal distances, plant species may be subjected to high spatio-temporal heterogeneity (Leigh *et al.*, 2004). In view of the high heterogeneity in tropical forests, many studies have been performed to evaluate species responses at different scales (Brujinzeel & Veneklaas, 1998; Velázquez-Rosas *et al.*, 2002; Graham, 2005; Holder, 2007; Beaumont & Burn, 2009; Poorter, 2009). Species responses along altitudinal gradients have been studied especially at a morphological level (Brujinzeel & Veneklaas, 1998; Velázquez-Rosa *et al.*, 2002; Holder, 2007; Rosado *et al.*, 2010) where species from contrasting environments exhibit different leaf morphologies in response to the degree of crown exposure (CE) and the environmental regime this implies (Poorter, 2009). To date however, whole plant water relations of tropical rain forest trees have not been examined along altitudinal gradients (Santiago *et al.*, 2000; Santiago *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2005). It is equally true that the science surrounding NT has been poorly advanced in tropical rain forests (Dawson *et al.*, 2007). Since tropical rain forests present high environmental heterogeneity and high species diversity (Myers *et al.*, 2000; Leigh *et al.*, 2004), this is both a major hindrance and major research need for understanding how nighttime conditions plant ecophysiology and overall forest function.

The Atlantic Forest occurs along the whole Brazilian coast and is considered a hot-spot (Myers *et al.*, 2000). This biome is a mosaic of ecosystems that belongs to the

Atlantic Dominion including lowland and montane forests (Joly *et al.*, 1999). In addition, altitudinal gradients present in the Atlantic rain forest produce directional changes in abiotic factors such as increases in radiation and decreases in temperature and atmospheric pressure. These changes promote strong directional changes in plant traits such as increases in leaf longevity and water use (Grubb, 1977; Brujinzeel & Veneklaas, 1998; Leuschner, 2000; Körner, 2007).

Considering the high environmental heterogeneity that tropical forest plants are subjected to via vertically complex canopies and altitudinal variation, we address the following question: are there different nocturnal transpirational behaviors in plants with distinct strata positions, crown exposures (CE) and occurring in different altitudes? We chose four woody species from Atlantic Rainforest co-occurring in Lowland (100 m) and Montane forests (1000 m) and occupying different canopy strata. We hypothesized that understory species in both altitudes will have quite uniform low rates of NT owing to the buffered within-canopy microclimate; generally low VPD should produce low NT fluxes. On the other hand, overstory species will be more exposed to bulk atmosphere conditions with a consequence of greater evaporative demand and higher NT. We also hypothesize higher NT at the Montane site compared to the Lowland forest, since VPD is higher in the sunnier montane environment (Rosado *et al.*, 2010). Testing these hypotheses concerning the diversity of NT ecophysiology within Atlantic Rainforest will deepen our understanding of the structural and functional complexity of these valuable forests which face threats from fragmentation and shifting environmental conditions.

Material and Methods

Study sites and species

Our study was conducted in lowland and montane forests in the Serra do Mar State Park, covering 315,000 hectares in the Atlantic Rain Forest in the north of São Paulo state, Brazil. The Lowland forest is around 100 m above sea level- ($23^{\circ} 31'$ to $23^{\circ} 34'$ S and $45^{\circ} 02'$ to $45^{\circ} 05'$ W) and has a tropical climate and a mean annual precipitation of 2200 mm. Usually, the driest months are July and August. The Montane forest is 1000 m above sea level - ($23^{\circ} 17'$ to $23^{\circ} 24'$ S and $45^{\circ} 03'$ to $45^{\circ} 11'$ W), has a tropical temperate climate, with mean annual precipitation around 2000 mm and fog frequency is around 100 days per year (Rosado *et al.*, 2010). All physiognomies are characterized as broadleaf evergreen tropical forests.

We selected plant species according to co-occurrence at both sites, contrasting canopy position (overstory, intermediary and understory) and species belonging to different families to avoid phylogenetic effects. The species chosen were: *Hyeronima alchorneoides* Allemão (Phyllantaceae), *Alchornea triplinervea* (Spreng.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae), *Mollinedia schottiana* (Spreng.) Perkins (Monimiaceae); and *Rustia formosa* Klotzch (Rubiaceae). *Hyeronima* and *Alchornea* are overstory species while *Rustia* is an intermediary and *Mollinedia* an understory species. For simplicity, we will refer to each species by their generic names.

Sap-flow probe installation and measurements

We used the heat ratio method (Burgess *et al.*, 1998, 2001) to make continuous measurements of sap flow in trunks in three individuals per species in each site. The HRM measure the increase in temperature following a heat pulse at two symmetrical

points, 5 mm above and below a heater inserted 30 mm into the active sapwood. This technique allows bi-directional measurements of sap flow and also measures very slow flow rates which we might expect during the night. Sap flow sensors (ICT International Pty Ltd, Armidale, NSW, Australia) were inserted into the xylem tissue of the trunks at breast height of three individuals per species. Each temperature sensor had two measurement points to measure sap velocity at two depths in the xylem tissue. Standard needles are 35mm long and have two thermocouples located 7.5 mm and 22.5 mm from the tip of the needle. This provides a spacing of 15 mm between each thermocouple and a 12.5mm distance between the outer thermocouple and the epoxy base of the needle. The 15 mm spacing between thermocouples is to prevent thermal differentiation of the two the readings. A metal guide (with three holes carefully drilled on a parallel line, spaced out 5 mm apart) was used to help drill the holes parallel and correctly spaced along their full depth of insertion (~30mm). The heater was set up to send a pulse every 30 min and temperature ratios were recorded continuously with a data logger (ICT International Pty Ltd, Armidale, NSW, Australia). We calculated the heat pulse velocity (cm hr^{-1}) following Burgess *et al.* (1998) as:

$$V = (kX^{-1}) \times \ln(v_1 (v_2)^{-1}) \times 3600$$

where k is the thermal diffusivity of the fresh wood, X is the distance between the heater and the thermocouples, and v_1 and v_2 are the differences between the initial temperature at the two thermocouples (downstream and upstream the flow in relation to the heater, respectively) and the temperature measured after a heat pulse. Since it was not possible to cut the xylem to establish zero flow, we selected a series of cloudy dawn after rainfall events to establish the baseline. The measurements were performed from June 2008 to

September 2009. We selected data from thirty representative nights of two dry seasons (July 2008 and June 2009) and one wet season (January 2009). The dry season of 2008 had two rainless months and was drier than 2009. NT was calculated as % of maximum transpiration rate during each period per individual. Data collected between 19:00 and 05:00 h were considered for analysis. Noisy data caused by equipment failure were excluded from the analysis.

Environmental variables

Three air temperature and relative humidity sensors (HOBO) were placed at different heights at the approximate distance from the ground of 20, 10 and 2 meters (canopy, intermediary and understory, respectively at both sites), set up to collect data every 30 min. These data were used to calculate the vapor pressure deficits (VPD, kPa). Global solar radiation (MJ m^{-2}) data in both sites were obtained from global solar radiation sensors (MODEL 200SA Pyranometer, Microcom Design Inc, Hunt Valley, MD, USA). The global solar radiation data were also available as a dataset provided by the Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPTEC/INPE) website (<http://www.cptec.inpe.br/>). The mean values correspond to a daily integral of radiation energy that we used to calculate monthly averages. We used regression analyses to evaluate the relationship between *En* and VPD.

Results

Environmental Variables

Despite the higher VPD at the Montane forest site than the Lowland forest (Rosado et al. 2010), mean air temperatures for all strata were lower at the Montane forest (Fig. 1). Nocturnal VPD increased from understory to overstory in both forests in

the dry and wet season of 2008. In general, nocturnal VPDs were similar between dry season of 2008 and the wet season. In the dry season of 2009, VPDs were similar among strata (Fig. 3 and 4). Maximum values reached 0.20 kPa in the overstory during the dry season of 2008 in the lowland forest and 0.70 kPa in the same period in the overstory of the Montane Forest. In fact, the maximum VPD at the understory in the Montane forest (around 0.3 kPa), was higher than the overstory at the Lowland site. Global solar radiation was higher at the Montane site for most of the studied period, with exception for one month in the wet season where the values were not different (Fig. 2).

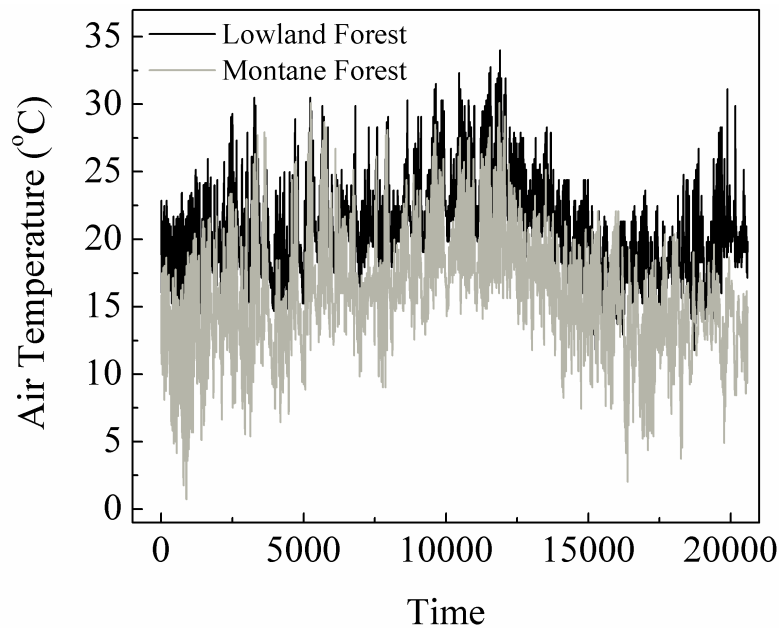


Figure 1. Mean air temperature (°C) of three strata (overstory, intermediary and understory) at the Lowland and Montane forests along the whole period of study. Data collected every 30 min.

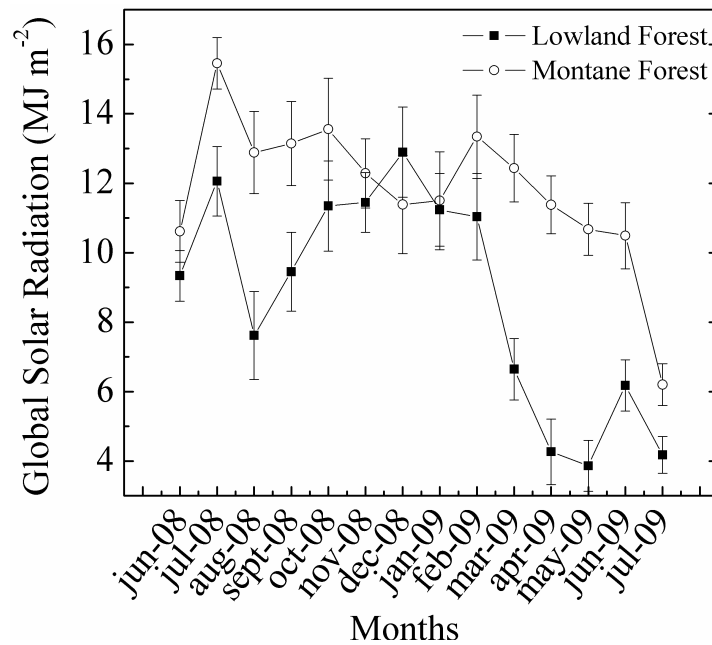


Figure 2. Global solar radiation (MJ m^{-2}) for Lowland and Montane forests during the period studied. The mean values correspond to a daily integral of radiation energy to calculate monthly averages.

Nighttime Transpiration

NT increased with VPD in all periods, sites and species (Fig. 3 and 4). However, the responses differed between sites because of differences in the magnitude of VPD. NT at the Lowland forest responded linearly to VPD (Table S1; Fig. 3) while at the Montane forest (where VPD reached higher values), NT increased as a non-linear function of VPD for most of individuals in both seasons (Table S1; Fig. 4). Within a given species in each forest, individual behaviors were not similar: for example, depending on the season linear and non-linear relationships between NT and VPD were found in one individual of *Hyeronima* at the Lowland forest (Fig. 3c) and in one individual of *Mollinedia* at the Montane forest (Fig. 4j).

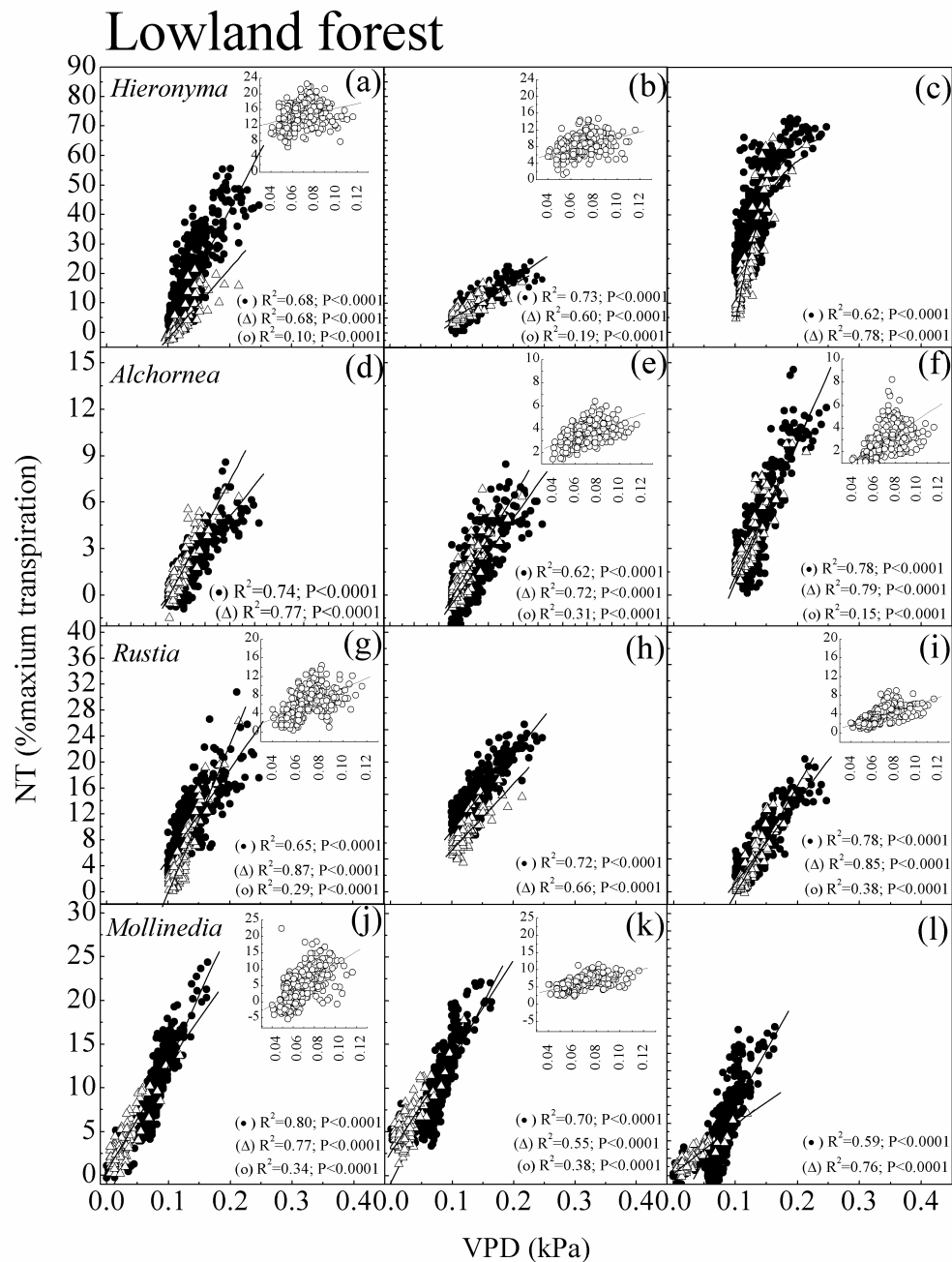


Figure 3. Relationship between vapor pressure deficit (VPD, kPa) and nighttime transpiration (NT) in four species at the Lowland forest expressed as % of summertime maximum transpiration rate. Each panel represented by different letters corresponds to data from one individual. Measurements were made between 19:00 and 5:00 h over 30 nights in the dry season 2008 (●), the wet season (Δ) and the dry season 2009 (○).

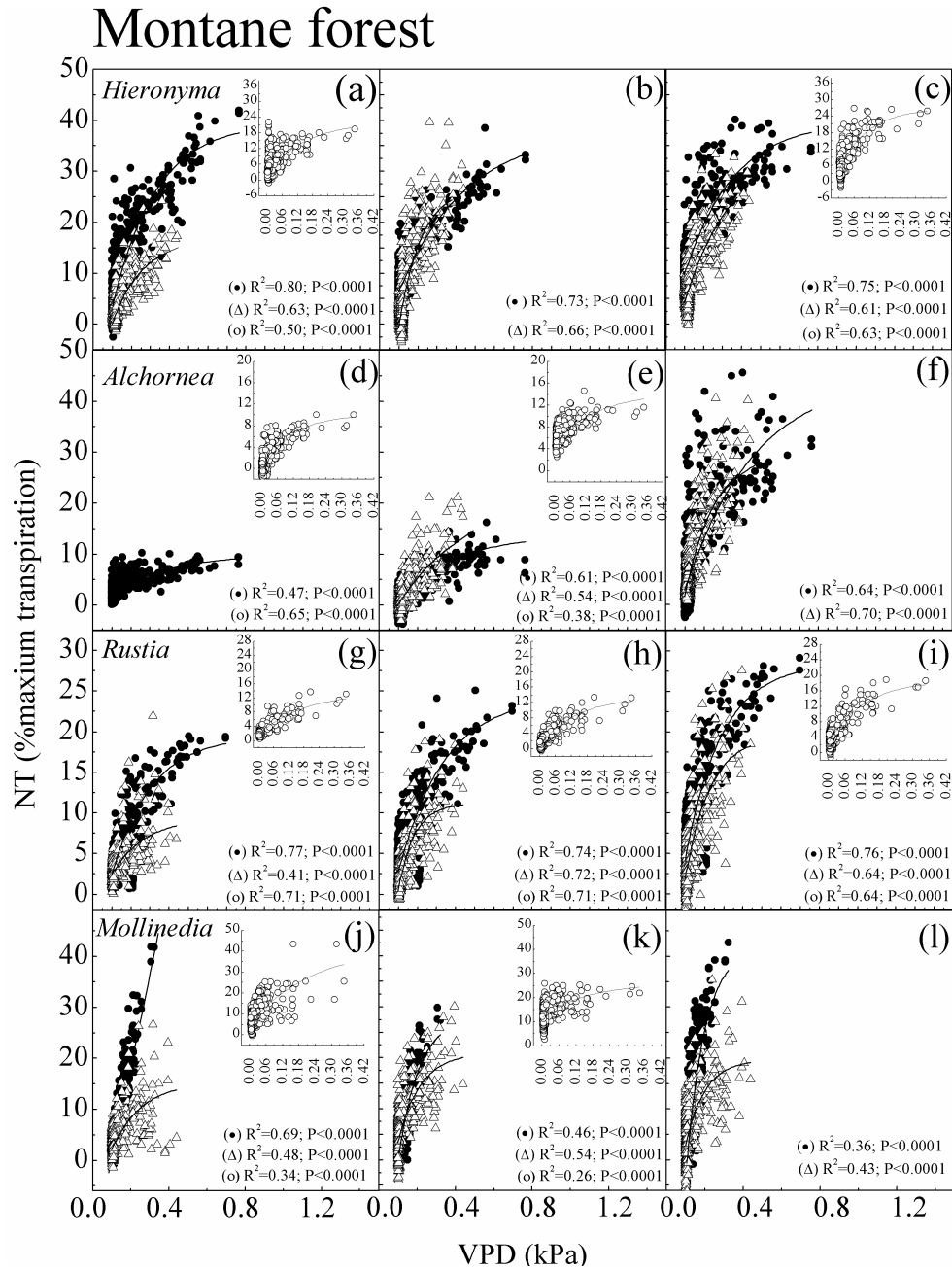


Figure 4. Relationship between vapor pressure deficit (VPD, kPa) and nighttime transpiration (NT) in four species at the Montane forest expressed as % of summertime maximum transpiration rate. Each panel represented by different letters corresponds to data from one individual. Measurements were made between 19:00 and 5:00 h over 30 nights in the dry season 2008 (●), the wet season (Δ) and the dry season 2009 (○).

Table S1. Equations from regressions between VPD and *En* for each individual of each species in different seasons at the Lowland and Montane forest. Non-linear relationships are represented in bold.

Site	Species	Ind	Dry season 2008	Wet season	Dry Season 2009
Lowland	<i>Hyeronima</i>	a	$y = -38.02 + 398.89x$	$y = -25.72 + 237.20x$	$y = 10.17 + 61.34x$
		b	$y = -11.21 + 145.72x$	$y = -6.73 + 115.88x$	$y = 3.17 + 69.24x$
		c	$y = 68.82 - 490.48 * 4.82e-10^x$	$y = 64.24 - 640.91 * 7.959e-11^x$	--
	<i>Alchornea</i>	d	$y = -5.15 + 50.99x$	$y = -7.69 + 75.40x$	--
		e	$y = -6.12 + 55.35x$	$y = -6.77 + 65.64x$	$y = 1.28 + 33.49x$
		f	$y = -8.12 + 89.68x$	$y = -7.47 + 87.05x$	$y = -1.39 + 61.09x$
	<i>Rustia</i>	g	$y = -8.78 + 137.81x$	$y = -23.00 + 228.02x$	$y = -1.30 + 107.48x$
		h	$y = -2.37 + 117.25x$	$y = -3.88 + 102.20x$	--
		i	$y = -11.21 + 125.91x$	$y = -16.91 + 166.26x$	$y = -1.27 + 73.88x$
	<i>Mollinedia</i>	j	$y = -2.94 + 156.71x$	$y = 0.45 + 119.92x$	$y = -8.97 + 202.73x$
		k	$y = -0.74 + 135.88.71x$	$y = 3.38 + 101.11x$	$y = 0.82 + 0.41x$
		l	$y = -5.35 + 124.40x$	$y = 0.21 + 55.53x$	--
Montane	<i>Hyeronima</i>	a	$y = 39.63 - 55.39 * 0.013^x$	$y = 16.43 - 31.39 * 0.00137^x$	$y = 22.12 - 20.29 * 0.001^x$
		b	$y = 38.18 - 42.05 * 0.058^x$	$y = 27.00 - 64.29 * 0.0002^x$	--
		c	$y = 39.88 - 44.60 * 0.02^x$	$y = 34.83 - 45.90 * 0.017^x$	$y = 26.82 - 22.80 * 1.2e-4^x$
	<i>Alchornea</i>	d	$y = 10.11 - 9.98 * 0.05^x$	--	$y = 10.04 - 10.65 - 9.02 * 0.0001^x$
		e	$y = 13.75 - 18.71 * 0.05^x$	$y = 20.41 - 27.48 * 0.04979^x$	$y = 14.64 - 9.02 * 0.005^x$
		f	$y = 44.94 - 55.32 * 0.06^x$	$y = 30.46 - 53.97 * 0.00179^x$	--
	<i>Rustia</i>	g	$y = 19.46 - 27.77 * 0.007^x$	$y = 9.37 - 12.43 * 0.00297^x$	$y = 13.48 - 11.79 * 0.003^x$
		h	$y = 24.29 - 32.77 * 0.015^x$	$y = 11.16 - 34.71 * 6.96e-6^x$	$y = 13.41 - 12.73 * 6.2e-4^x$
		i	$y = 28.44 - 40.64 * 0.005^x$	$y = 19.57 - 37.86 * 0.00045^x$	$y = 18.75 - 16.33 * 6.2e-4^x$
	<i>Mollinedia</i>	j	$y = -17.83 + 180.87x$	$y = 15.30 - 24.92 * 0.00165^x$	$y = 42.68 - 37.13 * 0.02^x$
		k	$y = 28.21 - 72.05 * 1.0e-4^x$	$y = 20.99 - 41.09 * 0.0002^x$	$y = 25.86 - 14.15 * 0.002^x$
		l	$y = 41.98 - 126.46 * 4.0e-5^x$	$y = 19.70 - 45.05 * 0.00005^x$	--

Maximum NT varied between and within species. NT for *Hyeronima* reached extremely high values, which represented as much as 80% and 45% of total transpiration at the Lowland and Montane forest, respectively. The other three species at the lowland

forest showed maximum NT values between 25% and 32%. *Alchornea* and *Mollinedia* showed maximum NT values around 45% at the Montane forest that were higher in comparison to the Lowland forest (Fig. 3 and 4). Only *Rustia* did not show great differences in the maximum NT between Lowland and Montane forest with values around 40% and 30%, respectively.

Discussion

Functions proposed to explain the significance of nighttime transpiration such as promoting nutrient supply (Scholz *et al.*, 2007) and carbohydrate export (Mark & Lechowicz, 2007), do not have a robust physiological basis and remain controversial (Dawson *et al.*, 2007; Mark & Lechowicz, 2007; Scholz *et al.*, 2007; Christman *et al.*, 2008; Christman *et al.*, 2009). NT has been considered as a passive process linearly driven by changes in VPD (Dawson *et al.*, 2007) as a consequence of high soil-to-atmosphere water potential gradients (Donovan *et al.*, 1999; Dawson *et al.*, 2007). To the extent the process is passively driven by VPD one could argue it is merely a consequence of poor stomatal regulation of water loss at night without having to invoke reasons for its occurrence beyond this. In fact, nighttime stomatal opening may be a consequence of recovery of normal turgor, or may assist respiratory gas exchange (Daley & Phillips, 2006; Mark & Lechowicz, 2007; Mott & Peak, 2010). In such cases the consequential loss of water could be viewed as no different to the water forfeited each day to facilitate carbon dioxide uptake during the day.

A novel finding of our present study is that NT-VPD can be highly non-linear which introduces a more complex picture, raising possibilities of nighttime stomatal regulation or other exogenous controls which limit NT. Indeed, as we discuss below all

of the usual thermodynamic aspects of transpiration involving energy input, sensible and latent heat flux, which are commonly considered for daytime transpiration (Pražák *et al.*, 1994; Williams *et al.*, 1998; Dekker *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2007) must also be considered in interpreting NT.

For example, some of the curved trajectories we recorded indicating reduction of transpiration as VPD increases at night might be related to a cooling effect by evaporation (latent heat flux). During the night there is no solar heating of leaves, but ambient heat in the air mass may be advected to the leaf with air flow, providing a low but constant heat source analogous to incident solar radiation. However, transpiration would rapidly cool leaves providing a self-limiting (energy-limited) process that becomes unresponsive to increasing atmospheric VPD (because of very low leaf vapor pressures).

In addition to possible thermodynamic influences on the trajectories of NT-VPD relationships, some of the nighttime behavior may be related to leaf water status and stomatal behavior since mechanisms responsible for stomatal responses to humidity and temperature are not different during day and night (Mott & Peak, 2010). Rapidly asymptotic components to some of the curves we measured hint at ‘gating’ by endogenous (leaf-level) physiological controls. At present, neither nocturnal leaf energy-balance, nor nocturnal stomatal behaviors are well understood and it is likely that characterization of both, including their combination, will be required before NT can be fully interpreted. Despite the nonlinear relationships between NT and VPD do not have a specific time to occur, the NT-VPD relationship can still be independent of this nightly progression if it is based on leaf water status, for instance, even with decline in VPD and wind toward dawn. If there is an energy balance element then maybe we will see some

shifts in the relationship over the course of the night. We suggest these are important avenues for future research and some preliminary modeling and measurement activities are already underway.

To our knowledge, we are aware of only two studies reporting non-linear relationship between NT and VPD, where values reached 4.0kPa (Moore *et al.*, 2008) and 2.5 kPa (Zeppel *et al.*, 2010). In both cases we have some reservations concerning these non-linear relationships. Moore *et al.* (2008) explained non-linear relationship based on a minimum threshold required for NT under low VPD. However, their study was performed with the heat dissipation method that shows difficulties related to estimate zero and low flows especially at night (Lu *et al.*, 2004; Dawson *et al.*, 2007; Burgess & Dawson, 2008). Certainly we cannot discard, in our own study, the possibility that our definitions of zero flow contained inaccuracies, but any errors should appear as an offset and not affect the linearity of transpirational flows detected by the HRM given it behaves symmetrically and linearly throughout low positive or negative flow ranges. Even with HRM, however, difficulties can arise for example when small reverse flow events occur due to foliar uptake of water (Burgess & Dawson, 2004). These produce a range of small velocities at zero VPD and if zero flow determination is also slightly inaccurate, some of this range may present as spurious positive numbers. This can skew curve fitting at the origin and where datasets are limited (e.g. spanning only a certain representation of soil, plant and atmospheric conditions) other sections of the curve can retain some uncertainty.

We believe both of these cautions are worth raising in the case of the curves fitted by Zeppel *et al.* (2010). We happily apply these types of cautions to our own data, but also highlight that the greater amount of data collected gives much stronger evidence that

curved NT-VPD functions exist. Also in the case of Zeppel *et al.* (2010), their curved functions are at odds with the strongly linear functions recorded for other eucalypt woodlands (Dawson *et al.*, 2007) underscoring the need for further characterization of the exact shape of NT-VPD relationships in these types of systems. Although our own data are also at odds with the strongly linear trends found across a range of biomes (Dawson *et al.*, 2007) most of these are for relatively dry sclerophyllous forest (e.g. Benyon, 1999; Dawson *et al.*, 2007) and there is little known about NT in Atlantic rainforest, or Montane tropical forests to contradict our results. For this reason, we suggest our results are quite unique among the NT literature.

We hope that with further measurement other indications of non-linear NT behaviours (Moore *et al.*, 2008; Zeppel *et al.*, 2010) can be confirmed. Obviously, increasing methodological sensitivity will be required to use sap flow to elucidate NT-VPD relationships, including handling such issues as zero flow, foliar uptake and separating refilling and transpiration processes by various means (e.g. Fisher *et al.*, 2007; Dawson *et al.*, 2007). We note however that we should not assume these latter processes are mutually exclusive. As pointed out by Burgess & Dawson (2008), when taking into account the cohesion-tension theory, all capacitors to be refilled are in equilibrium with the rest of water column such that refilling should begin concomitantly with decreasing afternoon transpiration and by dusk quite a bit of ‘catch-up’ may have taken place. Our time-based criteria (19:00h onwards) to identify NT were based on theory and careful observation on low VPD nights, that refilling is short-lived in our study species. Perhaps more important than refilling, if leaf energy balance is involved, is further measurement

of heat-related drivers of NT, e.g. changes to forest heat storage, leaf and air temperatures overnight and their effect on the NT-VPD relationship.

The role of site conditions and canopy strata

Despite limitations to our present conceptual understanding and the need for further study, we can draw some conclusions regarding the differences in NT behaviors among our sites. Firstly, in the Montane site, the diurnal thermal regime was more extreme than the Lowland forest: solar radiation was higher and air temperature at night was lower. This is obviously related to the low atmospheric turbidity in Montane forests which would promote higher incoming radiation and higher outgoing nighttime thermal radiation (Körner, 2007). Given this thermal regime, we might expect higher heat storage build-up in the forest and drier, windier bulk atmosphere above the canopy compared to Lowland. The result should be higher leaf-to-air vapor pressure gradients at the Montane site (see also Leuschner, 2000) and the resulting higher NT rates should reach putative endogenous or exogenous limits more readily. This would explain why almost all individuals of all species at the Montane forest showed strongly asymptotic curves between NT and VPD in all seasons. If stomatal regulation is involved in the asymptotic curves at the Montane site, the lower nighttime stomatal conductance would be related to high water use efficiency and lower daytime stomatal conductance due to natural selection in plants occurring in drier habitats with high VPD (Christman *et al.*, 2008).

In contrast to the observed differences between altitudes, canopy strata position does not seem to be an important factor affecting exogenous or endogenous controls of maximum NT nor the degree of linearity/non-linearity. Interestingly, our results are in contrast to the observed by Mark & Lechowicz (2007) where high NT is a characteristic

of shade-intolerant tree species associated to carbohydrate export and dark respiration. This is perhaps due to comparatively homogenous conditions within the canopies in our study sites when compared to larger site differences.

In conclusion, the asymptotic relationship between NT and VPD indicates that transpiration models still require improvement for better understanding of possible functional meanings related to NT. Several studies have elucidated the presence and possible causes to explain why plants lose water at night but we believe that the NT puzzle still has some pieces missing.

Acknowledgements

We are grateful to Renato Belinello and Erico Pereira-Silva for their help in fieldwork. Sincere thanks goes to Alec Downey and Alvaro Arias from ICT International Pty Ltd for excellent technical assistance during the whole study. We thank Pauline Grierson, Erik Veneklaas, Elizabeth McLean and the ERGO team for useful discussions. The authors were supported by grants from CNPq and the Biota-FAPESP Program - Projeto Temático Gradiente Funcional (03/12595-7). COTEC/IF 41.065/2005 and IBAMA/CGEN 093/2005.

References

- Beaumont S, Burn KC. 2009.** Vertical gradients in leaf trait diversity in a New Zealand forest. *Trees* **23**: 339-346.
- Benyon RG. 1999.** Nighttime water use in an irrigated *Eucalyptus grandis* plantation. *Tree Physiology* **19**:853–859.
- Bruijnzeel LA, Veneklaas EJ. 1998.** Climatic conditions and tropical montane forest productivity: the fog has not lifted yet. *Ecology* **79**: 3-9.

- Burgess SSO, Adams MA, Turner NC, Ong CK. 1998.** The redistribution of soil water by tree root systems. *Oecologia* **115**: 306-311.
- Burgess SSO, Adams MA, Turner NC, Beverly CR, Ong CK, Khan AAH, Bleby TM. 2001.** An improved heat pulse method to measure low and reverse rates of sap flow in woody plants. *Tree Physiology* **21**: 589–598.
- Burgess SSO, Dawson TE. 2004.** The contribution of fog to the water relations of *Sequoia sempervirens* (D. Don): foliar uptake and prevention of dehydration. *Plant, Cell and Environment* **27**: 1023–1034.
- Burgess SSO, Dawson TE. 2008.** Using branch and basal trunk sap flow measurements to estimate whole-plant water capacitance: a caution. *Plant and Soil* **305**: 5-13.
- Christman MA, Richards JH, McKay JK, Stahl EA, Juenger TE, Donovan LA. 2008.** Genetic variation in *Arabidopsis thaliana* for night-time leaf conductance. *Plant, Cell and Environment* **31**: 1170-1178.
- Christman MA, Donovan LA, Richards JH. 2009.** Magnitude of nighttime transpiration does not affect plant growth or nutrition in well-watered *Arabidopsis*. *Physiologia Plantarum* **136**: 264-273.
- Cowan IR, Farquhar GD. 1977.** Stomatal function in relation to leaf metabolism and environment. *Symp. Soc. Exp. Biol.* **31**: 471-505.
- Cruiziat P, Cochard H, Améglio T. 2002.** Hydraulic architecture of trees: main concepts and results. *Ann. For. Sci.* **59**: 723-752.
- Daley MJ, Phillips NG. 2006.** Interspecific variation in night-time transpiration and stomatal conductance in a mixed New England deciduous forest. *Tree Physiology* **26**: 411–419.

Dawson TE, Burgess SSO, Tu KP, Oliveira RS, Santiago LS, Fisher JB, Simonin KA, Ambrose AR. 2007. Nighttime transpiration in woody plants from contrasting ecosystems. *Tree Physiology* **27**: 561–575.

Dekker SC, Bouten W, Verstraten JM. 2000. Modelling forest transpiration from different perspectives. *Hydrological Processes* **14**: 251-260.

Donovan LA, Grise DJ, West JB, Pappert RA, Alder NN, Richards JH. 1999. Predawn disequilibrium between plant and soil water potentials in two cold-desert shrubs. *Oecologia* **120**: 209–217.

Donovan LA, Linton MJ, Richards JH. 2001. Predawn plant water potential does not necessarily equilibrate with soil water potential under well-watered conditions. *Oecologia* **129**: 328-335.

Fisher JB, Baldocchi DD, Misson L, Dawson TE, Goldstein AH. 2007. What the towers don't see at night: nocturnal sap flow in trees and shrubs at two AmeriFlux sites in California. *Tree Physiology* **27**: 597-610.

Graham EA, Mulkey SS, Kitajima K, Phillips NG, Wright SJ. 2005. Cloud cover limits net CO₂ uptake and growth of a rainforest tree during tropical rainy seasons. *Proceedings National Academy of Sciences* **100**: 572-576.

Grubb PJ. 1977. Control of forest growth and distribution on wet tropical mountains: with Special Reference to Mineral Nutrition. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* **8**: 83-107.

Holder C. 2007. Leaf water repellency as an adaptation to tropical montane cloud forest environments. *Biotropica* **39**: 767–770.

Joly CA, Aïdar MPM, Klink CA, Mcgrath DG, Moreira AG, Moutinho P, Nepstad DC, Oliveira AA, Pott A, Sampaio EVSB. 1999. Evolution of the Brazilian

phytogeography classification systems: implications for biodiversity conservation.

Ciência e Cultura (SBPC) **51**: 331-348.

Jones HG, Sutherland RA. 1991. Stomatal control of xylem embolism. *Plant Cell and Environment* **14**: 607-612.

Körner C. 2007. The use of ‘altitude’ in ecological research. *Trends in Ecology and Evolution* **22**: 569-574.

Leigh EG, Davidar P, Dick CW, Puyravaud J-P, Terborgh J, Steege Ht, Wright SJ. 2004. Why do some tropical forests have so many species of trees? *Biotropica* **36**: 447-473.

Leuschner C. 2000. Are high elevations in tropical mountains arid environments for plants? *Ecology* **81**: 1425-1436.

Lu P, Urban L, Zhao P. 2004. Granier’s thermal dissipation probe (TDP) method for measuring sap flow in trees: theory and practice. *Acta Bot Sin* **46**: 631–646.

Marks CO, Lechowicz MJ. 2007. The ecological and functional correlates of nocturnal transpiration. *Tree Physiology* **27**: 577-584.

Moore GW, Cleverly JR, Owens MK. 2008. Nocturnal transpiration in riparian *Tamarix* thickets authenticated by sap flux, eddy covariance and leaf gas exchange measurements. *Tree Physiology* **28**: 521–528.

Mott Ka, Peak D. 2010. Stomatal responses to humidity and temperature in darkness. *Plant, Cell and Environment* **33**: 1084-1090.

Motzer T, Munz N, Küppers M, Schmitt D, Anhuf D. 2005. Stomatal conductance, transpiration and sap flow of tropical montane rain forest trees in the southern Ecuadorian Andes. *Tree Physiology* **25**: 1283–1293.

- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Fonseca GAB, Kent J. 2000.** Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* **403**: 853-858.
- Oliveira RS, Bezerra L, Davidson EA, Pinto F, Klink CA, Nepstad DC, Moreira A. 2005.** Deep root function in soil water dynamics in cerrado savannas of central Brazil. *Functional Ecology* **19**: 574-581.
- Poorter L. 2009.** Leaf traits show different relationships with shade tolerance in moist versus dry tropical forests. *New Phytologist* **181**: 890-900.
- Pražák J, Sír M, Tesár M. 1994.** Estimation of plant transpiration from meteorological data under conditions of sufficient soil moisture. *Journal of Hydrology* **162**: 409-427.
- Rosado BHP, Oliveira RS, Aidar MPM. 2010.** Is leaf water repellency related to vapor pressure and crown exposure in tropical forests? *Acta Oecologica* **36**: 645-649.
- Santiago LS, Goldstein G, Meinzer FC, Fownes JH, Mueller-Dombois D. 2000.** Transpiration and forest structure in relation to soil waterlogging in a Hawaiian montane cloud forest. *Tree Physiology* **20**: 673-681.
- Santiago LS, Kitajima K, Wright SJ, Mulkey SS. 2004.** Coordinated changes in photosynthesis, water relations and leaf nutritional traits of canopy trees along a precipitation gradient in lowland tropical forest. *Oecologia* **139**: 495-502.
- Scholz FG, Bucci SJ, Goldstein G, Meinzer FC, Franco AC, Miralles-Wilhelm F. 2007.** Removal of nutrient limitations by long-term fertilization decreases nocturnal water loss in savanna trees. *Tree Physiology* **27**: 551-559.
- Snyder KA, Richards JH, Donovan LA. 2003.** Night-time conductance in C-3 and C-4 species: do plants lose water at night? *Journal of Experimental Botany* **54**: 861-865.

Snyder KA, James JJ, Richards JH, Donovan LA. 2008. Does hydraulic lift or nighttime transpiration facilitate nitrogen acquisition? *Plant and Soil* **306**: 159-166.

Velázquez-Rosas N, Meave J, Vazquez-Santana S. 2002. Elevational variation of leaf traits in montane rain forest tree species at La Chinantla, Southern Mexico. *Biotropica* **34**: 534-546.

Wang J, Bras RL, Lerdau M, Salvucci GD. 2007. A maximum hypothesis of transpiration. *Journal of Geophysical Research* **112**: 1-11.

Williams M, Malhi Y, Nobre AD, Rastetter EB, Grace J, Pereira MGP. 1998. Seasonal variation in net carbon exchange and evapotranspiration in a Brazilian rain forest: a modelling analysis. *Plant, Cell and Environment* **21**: 953-968.

Wood SA, Beringer J, Hutley LB, McGuire AD, Dijk AV, Kilinc M. 2008. Impacts of fire on forest age and runoff in mountain ash forests. *Functional Biology* **35**: 483-492.

Zeppel M, Tissue D, Taylor D, Macinnis-Ng C, Eamus D. 2010. Rates of nocturnal transpiration in two evergreen temperate woodland species with differing water-use strategies. *Tree Physiology* **30**: 988-1000.

Capítulo 4

Relação entre Fluxo de Água do Xilema e Características Morfológicas de Espécies Arbóreas em Florestas Tropicais

Bruno H. P. Rosado^{1,4}; Stephen S. O. Burgess^{2,3}; Rafael S. Oliveira⁴ & Marcos P. M. Aida⁵

⁽¹⁾Bolsista Doutorado/CNPq. Programa de Pós-graduação em Biologia Vegetal, IB, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brazil.

⁽²⁾Faculty of Agriculture, Food and Natural Resources, The University of Sydney, Sydney, Australia

⁽³⁾School of Plant Biology, The University of Western Australia, Perth, Australia

⁽⁴⁾Departamento de Biologia Vegetal, IB, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, SP, Brazil

⁽⁵⁾Seção de Fisiologia e Bioquímica de Plantas, Instituto de Botânica, SP, Brazil

^(*)Corresponding author: Departamento de Biologia Vegetal, IB Universidade Estadual de Campinas, Campinas/SP, CEP: 13083-970, Brazil; e-mail: brunorosado@gmail.com; fax: ++ 55 (0)19 35216374; tel: ++ 55 (0)19 35216175.

Resumo

A detecção da ampla escala de convergência funcional entre as plantas em diversos estudos, realizados em diferentes ambientes, tem sido feita a partir de um diverso conjunto de características. Além de atributos morfológicos, medidas diretas do fluxo de água do xilema podem refletir o comportamento ecofisiológico de cada espécie em termos de transpiração e uso de água já que reflete a integração de uma série de atributos e condições ambientais. Ao longo de variações altitudinais em florestas tropicais, observa-se que aumentos na quantidade de radiação solar e maiores demandas evaporativas do ar são condições similares as de ambientes secos já que favorecem maiores perdas de água pelas plantas. No entanto, variações nas respostas das plantas em função do estrato ocupado e do grau de exposição da copa dos indivíduos podem afetar a resposta das plantas as condições atmosféricas independente da altitude. Neste estudo, foi avaliado como variações no fluxo de água do xilema em espécies que co-ocorrem na Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas (FODTB) e na Floresta Ombrófila Densa Montana (FODM) estão associadas à variação de atributos morfológicos, dos diferentes estratos ocupados pelas espécies e condições ambientais em cada altitude. Apesar dos menores valores de volume de água transportado pelas espécies no FODM, esta diferença esteve associada ao menor tamanho dos indivíduos amostrados. A normalização do fluxo de água pela área da copa dos indivíduos indicou ausência de diferenças associadas ao estrato ocupado. A discussão aborda como diferenças morfológicas entre espécies e das condições ambientais entre altitudes parecem ter maior preponderância na determinação dos fluxos de água.

Palavras-chave: *Histerese, área específica foliar, variação altitudinal, Floresta Atlântica,*

Introdução

O contínuo solo-planta-atmosfera (SPA) depende de uma série de características de cada um dos três compartimentos do contínuo que podem alterar o uso da água de diversas maneiras. Algumas destas características tais como: folhas menores para dissipar o calor por convecção (Jarvis & McNaughton 1986; Sellers et al. 1992); produção de folhas mais reflectivas que minimizam o aquecimento (Sellers et al. 1992); redução da superfície transpirante através fenologia foliar (Casper et al. 2001); arquitetura radicular promovendo acesso à água em diferentes profundidades (Oliveira et al. 2005) e variações quanto à eficiência no uso da água devido ao tipo de via fotossintética (Ehleringer & Monson 1993). Ajustes fisiológicos tais como grau de abertura estomática, acúmulo de solutos e condutância hidráulica (Sperry et al. 2002) também podem alterar a utilização da água. Além dos fluxos de água, todas as características supracitadas também podem afetar a capacidade de assimilação do CO₂, já que estão diretamente relacionadas à fotossíntese. Neste sentido, características capazes de descrever não apenas as respostas das plantas ao longo de uma variação altitudinal, mas que também estão relacionadas com fluxo de água do xilema devem ser consideradas.

Além de características como área foliar, via fotossintética e arquitetura radicular, a área específica foliar (AEF) é uma característica que tem sido utilizada como um bom descritor de processos desde o nível de indivíduos até ecossistemas, pois se relaciona com processos como fotossíntese, fenologia foliar e decomposição (Reich et al. 1992; Wright et al. 2004). A AEF é um atributo que reflete o custo de construção da folha baseado principalmente em carbono e é dependente tanto da densidade foliar (DEN) quanto da espessura foliar (ESP) (Witkowski & Lamont 1991). Em ambientes pobres em recursos

as espécies tendem a apresentar folhas com menores AEF (Westoby et al. 2002), e nestes ambientes observa-se uma relação negativa entre AEF e longevidade foliar, uma vez que a maior durabilidade da folha estaria associada a maior quantidade de tecidos estruturais (fibras, esclereídeos, etc.) que promovem maior resistência tanto a intempéries quanto a herbivoria (Chabot & Hicks 1982; Reich et al. 1992). A maior durabilidade permite que a fotossíntese em cada folha ocorra por um tempo maior, amortizando, em termos de carbono e nutrientes, o custo investido na construção das folhas (Chabot & Hicks 1982; Westoby et al. 2002).

Contudo, diferenças em características foliares também podem se dar em um mesmo ambiente em função de variações nas condições tais como a disponibilidade de luz (Williams et al. 1989; Niinemets 2001). Ao contrário do esperado, onde espécies tolerantes a sombra tenderiam a apresentar maiores AEF para maximizar a interceptação de energia luminosa, vários estudos tem demonstrado o inverso, onde espécies tolerantes a sombra possuem menores AEF o que aumenta a longevidade foliar e a defesa contra herbívoros (Reich et al. 2003). Mais recentemente, este significado funcional tem sido explicado a partir do grau de exposição da copa dos indivíduos especialmente para espécies que ocorrem em florestas úmidas (Poorter 2009).

Além de características foliares, a densidade da madeira (DM) é uma importante característica associada às propriedades de transporte de água no xilema, além de estar associada a crescimento e resistência a danos físicos (Meinzer 2003). Hacke et al. 2001, registraram correlações significativas entre a DM e a pressão xilemática na qual há perda de 50% da condutividade hidráulica por cavitação entre várias espécies com madeiras de diferentes densidades. Altas DM aumentam a resistência ao fluxo de água, diminuindo a

eficiência no transporte de água por área de xilema, promovendo valores mais negativos de potencial hídrico foliar (Meinzer 2003). Assim, o ganho em resistência à cavitação com aumento da DM parece estar diretamente associado com a redução da condutividade hidráulica estabelecendo um claro *trade-off* entre eficiência no transporte de água e resistência à cavitação. Esta associação entre DM e transporte de água tem reflexo também em relação a características como a área foliar já que há uma relação inversa entre área foliar e DM (Wright et al. 2007). Uma possível explicação para esta relação é que folhas menores possuem menor demanda por água o que se ajustaria às maiores restrições ao transporte de água oferecidas por madeiras mais densas (Chave et al. 2009).

Neste sentido, um importante parâmetro morfológico que agrega tanto características foliares quanto dos ramos é o Valor de Huber (VH). O Valor de Huber reflete a demanda potencial de transpiração relativa à capacidade de transporte de água e pode ser expresso como um índice da potencial restrição arquitetural do suprimento de água em relação à demanda transpiracional (Meinzer et al. 1997). Assim, análises das respostas das plantas em relação às condições atmosféricas e variações sazonais do VH indicam ajustes relacionados ao aumento na condutância hidráulica (Bucci et al. 2005).

De maneira geral, há um consenso de que a abertura estomática exerce papel preponderante na regulação transpiracional e essa visão tem-se mantido inquestionável em vários de estudos (Dolman et al. 1991; Meinzer 1993). Entretanto, diversos modelos micrometeorológicos tem sido capazes de prever os fluxos transpiracionais sem considerar variações na abertura estomática, levando a crer que fatores como radiação, vento e umidade relativa são mais importantes na determinação da transpiração (Collatz et al. 1991; Meinzer 1993). A origem da controvérsia relaciona-se aos tipos de

experimentos que foram conduzidos e as ferramentas de análise de trocas gasosas. De modo geral, a influência do grau de abertura dos estômatos nos fluxos transpiracionais tem sido notada em estudos que utilizam Porômetros e Analisadores de Gases por Infravermelho (*IRGA – infra red gas analyser*) onde as folhas são acondicionadas em câmaras ventiladas que removem completamente a camada envolvente de ar (*boundary layer*) (Jarvis & McNaughton 1986). Assim, a condutância da camada envolvente, que pode variar de acordo com tamanho foliar e vento, por exemplo, pode ter um papel mais importante nos fluxos transpiracionais (Grace et al. 1980), uma vez que baixas condutâncias desacoplam o ar da superfície foliar e o circundante, limitando as trocas de gases (Jarvis & McNaughton 1986, Meinzer 1993).

Neste sentido, estimativas do fluxo de água do xilema são importantes, pois não desconsideram a condutância da camada envolvente que pode possuir papel central nos fluxos transpiracionais. Assim, medidas diretas do fluxo de água do xilema podem refletir o comportamento ecofisiológico de cada espécie em termos de transpiração e uso de água, uma vez que é a resultante final de uma série de características morfofisiológicas das plantas, do solo e da atmosfera (Burgess 2006). Calibre dos vasos, grau de abertura dos estômatos, índice de área foliar, condutância da camada envolvente e fatores abióticos como déficit de pressão de vapor, vento e água no solo também contribuem para variações no fluxo de água do xilema e vários estudos realizados em diferentes ecossistemas têm utilizado o fluxo de água do xilema na detecção das estratégias de utilização de água em várias espécies (Burgess & Dawson 2004, O'Brien et al. 2004, Oliveira et al. 2005; Burgess 2006; Marks & Lechowicz 2007; Scholz et al. 2008; Snyder et al. 2008). Além disso, o fluxo de água do xilema apresenta significado funcional não

apenas em relação ao uso de água, mas também em relação às taxas de absorção e transporte de nutrientes (Baker & Becker 1995).

Em casos onde a condutância da camada envolvente é maior do que a estomática, a taxa de transpiração é proporcional a condutância estomática e o grau de desacoplamento da planta com a atmosfera é baixo (Jarvis & McNaughton 1986; Meinzer 1993). Em linhas gerais, espera-se que o desacoplamento será alto em espécies com copas densas e/ou com folhas grandes o que pode aumentar a espessura da camada envolvente (menor condutância) (Jarvis & McNaughton 1986; Meinzer 1993). Por outro lado, copas mais expostas ao vento e folhas menores permitem que a condutância da camada envolvente seja alta fazendo com que desacoplamento seja próximo de zero, aumentando assim as trocas gasosas (Jarvis & McNaughton 1986).

Ao longo de variações altitudinais em florestas tropicais, como observado no Parque Estadual na Serra do Mar-SP, observa-se que em altitudes elevadas, a presença de neblina pode reduzir significativamente a quantidade de radiação solar recebida durante o dia, o que conseqüentemente, reduz a taxa fotossintética e os fluxos transpiracionais (Graham et al. 2005). Portanto, como um meio de compensar o baixo ganho de carbono por unidade de tempo em função da atenuação luminosa provocada pela neblina, espécies que ocorrem em florestas montanas tendem a apresentar uma menor AEF e longevidade foliar para compensar o baixo ganho de carbono por unidade de tempo (Bruijnzeel & Veneklaas 1998). Além disso, menores valores de AEF em maiores altitudes estariam associados a maiores espessuras foliares como mecanismo relacionado a aumentar a fixação de CO₂ uma vez que um maior número de camadas de parênquima paliádico aumentaria a eficiência do aparato fotossintético (Grubb 1977; Velázquez-Rosa et al.

2002; Roche et al. 2004). Além de AEF e espessura foliar, a área foliar tende a diminuir ao longo de elevações altitudinais uma vez que menores temperaturas podem reduzir o crescimento celular (Velázquez-Rosa et al. 2002).

Contudo, não apenas a fotossíntese como também o fluxo de água nas plantas diminui com a presença da neblina (Graham et al. 2005) o que contribuiria para menores taxas de crescimento e reduzido transporte de nutrientes para as folhas (Santiago et al. 2000). Os fluxos transpiracionais e as taxas de crescimento podem ser ainda menores em florestas montanas se as espécies apresentarem altas DM uma vez que maiores restrições hidráulicas levariam a reduções na fotossíntese (Santiago et al. 2004). Entretanto, menores fluxos transpiracionais podem ser vantajosos mesmo para plantas que ocorrem em florestas ombrófilas densas montanas (FODM). Isto porque fatores como menor pressão parcial do CO₂ atmosférico, menor velocidade do vento e maior radiação (em períodos sem neblina) favorecem aumentos na demanda evaporativa do ar o que aumenta a perda de água em maiores altitudes (Leuschner 2000; Korner 2007; Rosado et al. 2010). Além disso, a maior proporção de raízes finas encontradas na FODM da Serra do Mar (Rosado et al.) pode contribuir para maiores taxas transpiracionais, de absorção de água e minimização de embolismos (Nepstad et al. 1994; Williams et al. 1998; Zeppel et al. 2004). Outro fator que pode contribuir para maiores fluxos de água na FODM é a maior repelência hídrica foliar (Rosado et al. 2010) que pode impedir o acúmulo de água sobre a folha especialmente durante períodos de neblina.

Levando-se em consideração as espécies que ocorrem em estratos mais baixos da floresta, o efeito da neblina na atenuação luminosa pode ser reduzido em comparações feitas com espécies que ocupam o mesmo estrato em FODTB. Partindo-se da premissa

que as espécies que ocupam os estratos superiores da floresta responderão mais diretamente às variações atmosféricas que espécies do sub-bosque (O'Brien et al., 2004), sugerimos que espécies presentes no sub-bosque apresentarão fluxos de água similares em diferentes altitudes. Em complemento a isto, mesmo em altitudes com fatores abióticos contrastantes, as espécies podem possuir desacoplamentos semelhantes, fazendo com que o grau de exposição da copa tenha um efeito superior na determinação dos fluxos.

Na literatura, nota-se que espécies de sub-bosque em florestas tropicais não apresentam variações nos fluxos transpiracionais mesmo com variações no grau de abertura dos estômatos (Jarvis & McNaughton 1986; Meinzer et al. 1995), o que faz com que estas espécies respondam mais lentamente as variações atmosféricas do que as espécies de dossel (Roberts et al. 1990; O'Brien et al. 2004). Assim, variações no grau de abertura dos estômatos podem realmente ter pouca relevância para as trocas gasosas de um indivíduo de sub-bosque, uma vez que, o somatório das condutâncias das camadas envolventes de todos os indivíduos do entorno terão maior contribuição na magnitude dos fluxos (Jarvis & McNaughton 1986; Collatz et al. 1991). No entanto, o assunto ainda merece investigação uma vez que em estudo realizado em Floresta Montana no Equador não foram observadas diferenças no desacoplamento entre espécies de dossel e sub-bosque (Motzer et al. 2005).

Considerando todo o exposto acima, características integradoras capazes de refletir o comportamento ecofisiológico de cada espécie em termos de trocas gasosas e uso de água são essenciais em diferentes níveis de investigação. Especialmente em relação ao fluxo de água do xilema que é a resultante final de características morfo-fisiológicas

como grau de abertura dos estômatos, índice de área foliar, condutância da camada envolvente e fatores abióticos como déficit de pressão de vapor e água no solo (Burgess 2006).

Assim, as hipóteses são: (i) espécies presentes no sub-bosque e sub-dossel de florestas montanas e de terras baixas apresentarão fluxos de água similares uma vez que o somatório das condutâncias das camadas envolventes seria capaz de tamponar variações nas condições atmosféricas. Portanto, nestas espécies, diferenças em atributos morfológicos como área foliar, densidade da madeira e valor de huber não afetariam o fluxo de água; (ii) espécies de dossel estariam mais acopladas às condições atmosféricas e responderiam mais rapidamente do que espécies de sub-bosque a variações nas condições atmosféricas; (iii) atributos morfológicos modulariam as diferenças de fluxo entre espécies de dossel dentro de cada altitude; (iv) a maior radiação solar, DPV e proporção de raízes finas na FODM favoreceriam maior fluxo de água nas espécies de dossel quando comparadas as espécies de dossel de terras baixas.

Material e Métodos

Áreas de estudo

Situado no município de Ubatuba, a floresta de Terras Baixas - *Núcleo Picinguaba* (23° 31' a 23° 34' S e 45° 02' a 45° 05' W), é uma fisionomia definida como Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas (FODTB). O clima regional é tropical úmido, com uma precipitação média anual superior a 2.200 mm (Assis 1999). A Floresta Montana - *Núcleo Santa Virgínia* (23° 17' a 23° 24' S e 45° 03' a 45° 11' W) situa-se nos municípios de São Luís do Paraitinga (70%), Cunha (20%) e Ubatuba (10%). A fisionomia predominantemente é a Floresta Ombrófila Densa Montana (FODM)

situando-se a uma altitude que varia de 850 a 1.100 m. O clima regional é tropical temperado, com uma precipitação média anual superior a 2.000 mm. Em cada uma das altitudes, as coletas foram realizadas dentro de uma parcela de um hectare que apresentam topografias distintas onde a FODM apresenta maior declividade do que a FODTB (Martins, 2010).

Espécies estudadas

Foram escolhidas quatro espécies lenhosas que atendessem quatro requisitos. Co-ocorrência em ambas as altitudes; ocupassem diferentes estratos em ambas as florestas; que as posições nos estratos não fossem diferentes entre as florestas e que pertencessem a gêneros e/ou famílias diferentes para evitar efeitos filogenéticos (Felsenstein 1985). As espécies escolhidas foram: *Hyeronima alchorneoides* Allemão (Phyllantaceae), *Alchornea triplinervea* (Spreng.) Müll. Arg. (Euphorbiaceae), *Mollinedia schottiana* (Spreng.) Perkins (Monimiaceae) e *Rustia formosa* Klotzch (Rubiaceae). Em cada altitude foram amostrados de três a quatro indivíduos de cada espécie.

Características morfológicas

Para a caracterização morfológica das folhas, foi coletado um ramo de três a quatro indivíduos adultos de cada espécie durante as estações seca e chuvosa em ambas as altitudes. As coletas foram feitas em junho de 2007 e janeiro de 2008 na floresta de terras baixas e em junho de 2008 e janeiro de 2009 na floresta Montana. Após a coleta os ramos foram levados até a estação de campo, onde foram reidratados em água por duas horas. O corante azul de metileno (0,5% m/v) foi adicionado à água para determinação da capacidade de transporte de água dos ramos através do valor de Huber ($\text{cm}^2 \text{ m}^{-2}$), calculado como a razão entre a área de xilema ativo e área foliar total do ramo. Após a

hidratação, a espessura (mm) de três folhas por ramo foi medida em seus terços médios com um paquímetro digital. Todas as folhas de um ramo terminal foram digitalizadas em um scanner de mesa e secas em estufa a 60 °C por três dias para a obtenção da massa seca. A área foliar (cm²) foi medida através do programa ImageJ (versão 1.38x, National Institutes of Health, EUA). A partir destes dados foi calculada a área específica foliar (AEF, cm² g⁻¹) (Witkowski & Lamont 1991). O ramo terminal, sem folhas, foi dividido em madeira e casca. O volume da madeira foi obtido segundo o princípio de deslocamento de água de Arquimedes, e as amostras secas em estufa a 60 °C por sete dias para a obtenção da massa seca. A partir destes dados, foi calculada a densidade da madeira (g cm⁻³) (Hacke et al. 2001) e a razão de área foliar (RAF, m² g⁻¹), calculada como a área foliar total dividida pela massa total do ramo. (Lambers & Poorter 1992). A área da copa de cada indivíduo foi estimada a partir da distância entre a projeção do término da copa, em relação ao solo, até o tronco em quatro direções e a área foi calculada a partir da fórmula da elipse (O'Brien et al. 2004). O grau de exposição da copa de cada indivíduo foi estimado a partir do método visual proposto por Clark & Clark (1992) como descrito em Rosado et al. (2010).

Fluxo de água do xilema

Foi medido através do método da razão de calor (MRC) (Burgess et al. 2001). Os sensores foram instalados, em junho de 2008, a altura do peito, nos troncos dos indivíduos, com diâmetro a altura do peito (DAP) maior que 15 cm, de cada espécie em cada localidade e a velocidade do fluxo de água (Vh) expressa em cm.h⁻¹. O MRC mede o aumento de temperatura seguindo um pulso de calor em dois pontos simétricos acima e abaixo de uma resistência inserida 6 mm na área de xilema ativa. Esta técnica é vantajosa,

pois permite medidas bi-direcionais de seiva e também detecta taxas mais lentas de fluxo e pode ser usada como medida dos fluxos transpiracionais (Burgess 2006). Uma resistência e um par de termopares foram inseridos radialmente no xilema de dois indivíduos por espécie em cada localidade. Cada termopar tem duas junções para medir velocidade da seiva. Os sensores foram programados para medições a cada 30 minutos (ICT, International Sydney, Austrália). Para estimar a área de xilema ativo de cada indivíduo, primeiramente são estimados os DAP e espessura da casca. Posteriormente, pipetas de vidro foram inseridas no tronco e o corante azul de metileno foi injetado. Com auxílio de uma broca de 1,3 cm de diâmetro uma amostra do tronco foi retirada para posterior medida do trecho de xilema ativo com um paquímetro (Granier et al. 1996) para o cálculo do volume de água transportada.

Variáveis Abióticas

Foram instalados três sensores de temperatura e umidade relativa (HOBO) em diferentes estratos na floresta para o cálculo e avaliação da variação vertical do déficit de pressão de vapor da atmosfera (DPV) (Rosado et al., 2010). Dependendo do estrato ocupado por cada indivíduo, os valores de fluxo de água no xilema foram relacionados ao DPV da altura correspondente. Cada um dos sistemas de sensores de fluxo de seiva, em cada uma das áreas, possui um painel solar responsável por recarregar a bateria que alimenta o datalogger. Os dados de amperagem do painel solar, referentes à recarga da bateria, registrados a cada trinta minutos, foram utilizados como ‘radiação solar’ uma vez que a variação temporal da amperagem ocorre de acordo com variações na radiação solar.

Análises Estatísticas

A partir de uma análise de variância de dois fatores (ANOVA two-way, $P < 0,05$) com teste *post hoc* de Tukey ($P < 0,05$), foram avaliadas diferenças entre as espécies em relação às características morfológicas entre estações e altitudes. Foram feitas regressões lineares entre os valores máximos de fluxo de água (litro.dia^{-1}) e a área projetada copa de cada indivíduo (m^2). A partir desta análise, a comparação entre espécies e entre altitudes foi feita com os dados de velocidade do fluxo de água normalizados pela área da copa. Gráficos de três eixos (fluxo de água, DPV e radiação) foram gerados para determinar se a direção do fluxo de água se dá no sentido horário ou anti-horário (Figura 1). A área da histerese destes gráficos (kPa) foi derivada através do cálculo das áreas polinomiais das curvas superiores e a subtração da área da polinomial da curva inferior (Zeppel et al. 2004). A condutância total de cada indivíduo ($\text{CT, lit.dia}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{kPa}^{-1}$) foi estimada a partir da relação *fluxo de água/DPV* (Cavender-Bares et al. 2007) nas estações seca e chuvosa. Foi feita uma Análise de Componentes Principais (ACP) para testar possíveis associações entre os valores máximos do fluxo de água e a média dos atributos funcionais em cada uma das altitudes ao longo do tempo (O'Brien et al. 2004). Nas ACPs foram incluídos os dados de repelência hídrica foliar estimado para as mesmas espécies nas duas florestas (Rosado et al. 2010). Todas as análises foram feitas utilizando o software R versão 2.11.1, 2010, <http://www.R-project.org>.

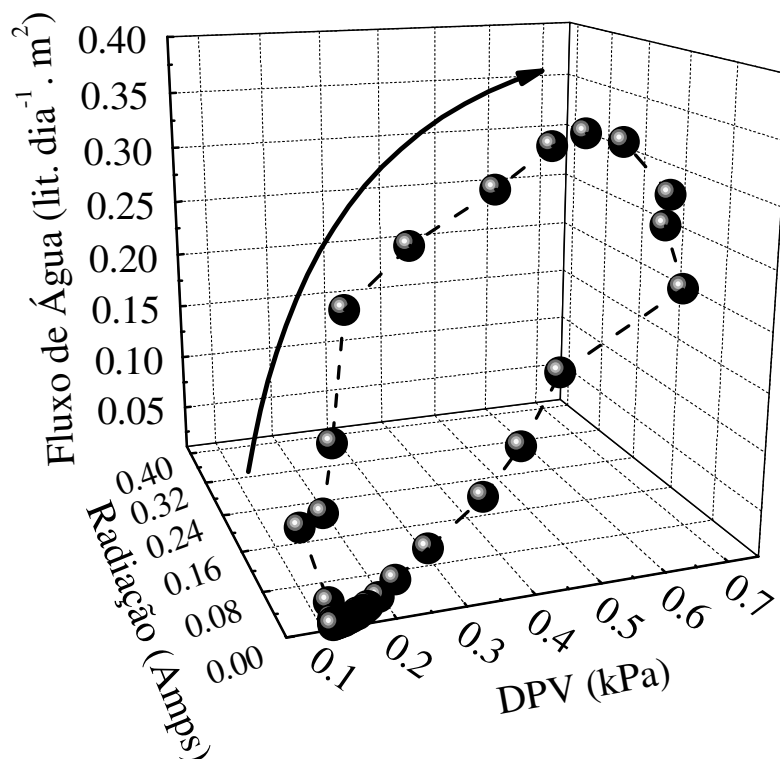


Figura 1. Exemplo de gráfico tridimensional com ocorrência de histerese em indivíduo de *Hyeronima alchorneoides* na Floresta Ombrófila Densa Montana durante a Seca de 2008. A seta indica o sentido no qual ocorre o fluxo de água no início do dia.

Resultados

Características Morfológicas

Foram observadas diferenças significativas tanto na comparação inter e intra-específica dentro e entre altitudes e estações, (Tabela 1). Embora não tenham ocorrido diferenças significativas entre altitudes, quando comparadas entre si e por estação, as espécies apresentaram uma tendência de maior DEN e menor SLA, VH e ESP na FODM. De maneira geral, houve uma tendência de que *Mollinedia* e *Rustia* apresentassem os maiores valores de cada atributo durante a estação seca (Tabela 1).

Tabela 1. Variação de atributos morfológicos entre espécies e estações na duas florestas. Os valores são médias $\pm$ erro padrão. Letras diferentes apontam diferenças significativas entre espécies para cada atributo (Tukey, ANOVA, $p < 0.05$).

Local	Estação	Espécies	VH $\text{cm}^2 \text{ m}^{-2}$	CAF g g^{-1}	AEF $\text{cm}^2 \text{ g}^{-1}$	DEN mg mm^{-3}	ESP mm	DM g cm^{-3}
Terras Baixas	Chuvosa	<i>Alchornea</i>	0.73 ± 0.30^{ab}	0.62 ± 0.02^{ab}	138.31 ± 33.64^{ab}	0.50 ± 0.16^{cd}	0.19 ± 0.05^a	0.30 ± 0.05^a
		<i>Hyeronima</i>	0.90 ± 0.15^{ab}	0.73 ± 0.02^d	129.63 ± 17.84^a	0.32 ± 0.05^{abcd}	0.25 ± 0.01^{ab}	0.42 ± 0.01^{abcd}
		<i>Mollinedia</i>	0.89 ± 0.13^{ab}	0.72 ± 0.02^d	194.40 ± 31.05^{ab}	0.26 ± 0.04^{abc}	0.21 ± 0.01^{ab}	0.50 ± 0.01^d
		<i>Rustia</i>	1.14 ± 0.28^b	0.78 ± 0.01^d	148.14 ± 3.46^{ab}	0.25 ± 0.01^{abc}	0.27 ± 0.01^{ab}	0.35 ± 0.01^{abc}
	Seca	<i>Alchornea</i>	0.53 ± 0.12^{ab}	0.61 ± 0.01^a	153.57 ± 15.96^{ab}	0.22 ± 0.04^{ab}	0.32 ± 0.04^b	0.30 ± 0.05^a
		<i>Hyeronima</i>	0.66 ± 0.12^{ab}	0.72 ± 0.02^d	121.03 ± 14.45^a	0.27 ± 0.03^{abc}	0.32 ± 0.04^b	0.42 ± 0.04^{abcd}
		<i>Mollinedia</i>	1.20 ± 0.32^b	0.76 ± 0.01^d	237.41 ± 7.44^b	0.19 ± 0.01^{ab}	0.23 ± 0.01^{ab}	0.50 ± 0.01^d
		<i>Rustia</i>	2.73 ± 0.47^c	0.92 ± 0.01^c	242.89 ± 77.54^b	0.15 ± 0.02^a	0.32 ± 0.05^b	0.35 ± 0.05^{abc}
Montana	Chuvosa	<i>Alchornea</i>	0.56 ± 0.07^{ab}	0.59 ± 0.02^a	118.41 ± 8.74^a	0.55 ± 0.05^d	0.16 ± 0.02^a	0.38 ± 0.02^{abcd}
		<i>Hieronyma</i>	0.88 ± 0.10^{ab}	0.76 ± 0.01^d	131.25 ± 9.33^a	0.35 ± 0.03^{abcd}	0.23 ± 0.02^{ab}	0.34 ± 0.02^{ab}
		<i>Mollinedia</i>	0.54 ± 0.07^a	0.77 ± 0.03^d	186.74 ± 21.51^{ab}	0.31 ± 0.07^{abc}	0.21 ± 0.03^a	0.46 ± 0.03^d
		<i>Rustia</i>	0.80 ± 0.13^{ab}	0.70 ± 0.01^{bcd}	131.16 ± 5.19^a	0.40 ± 0.04^{abcd}	0.20 ± 0.02^a	0.47 ± 0.02^d
	Seca	<i>Alchornea</i>	0.18 ± 0.02^a	0.61 ± 0.04^{abc}	114.69 ± 2.89^a	0.45 ± 0.05^{bcd}	0.20 ± 0.03^{ab}	0.38 ± 0.02^{abcd}
		<i>Hieronyma</i>	0.74 ± 0.22^{ab}	0.76 ± 0.01^d	127.06 ± 3.14^a	0.32 ± 0.01^{abc}	0.25 ± 0.01^{ab}	0.34 ± 0.02^{ab}
		<i>Mollinedia</i>	0.35 ± 0.12^a	0.72 ± 0.03^d	148.27 ± 12.07^{ab}	0.29 ± 0.03^{abc}	0.25 ± 0.04^{ab}	0.46 ± 0.03^{bcd}
		<i>Rustia</i>	0.69 ± 0.13^{ab}	0.71 ± 0.03^{cd}	146.74 ± 18.41^{ab}	0.39 ± 0.01^{abcd}	0.18 ± 0.02^a	0.47 ± 0.02^{cd}

O Valor de Huber (VH) variou de 0.18 a 2.24 cm².m⁻². As espécies *Mollinedia* e *Rustia* apresentaram os maiores valores de VH na FODTB durante a estação seca (1.20 e 2.34 cm² m⁻², respectivamente) e durante a chuvosa (*Rustia*, 1.14 cm² m⁻²). De maneira geral, houve tendência de menores VH na FODM na qual *Alchornea* apresentou o menor valor durante a estação seca (0.18 cm² m⁻²). O conteúdo de água (CAF) foliar variou de 0.61 a 0.92 g g⁻¹ onde *Rustia* na FODTB, durante o período seco, apresentou valores significativamente maiores de CAF enquanto *Alchornea* apresentou os menores valores em ambas as altitudes. O mesmo foi observado para a área específica foliar (AEF) onde *Rustia* e *Alchornea* apresentaram o maior e menor valor respectivamente (242 e 114 cm² g⁻¹). Os dois componentes da AEF que são espessura (ESP) e densidade foliar (DEN) apresentaram padrões inversos de diferenciação entre as espécies. Para a DEN, que variou de 0.15 a 0.55 mg mm⁻³, *Alchornea* na FODM durante a estação seca apresentou maiores valores (0.55 mg mm⁻³) enquanto *Rustia* na FODTB durante a seca apresentou o menor valor (0.15 mg mm⁻³). Em relação a ESP, que variou de 0.16 a 0.32 mm, foi observado o inverso onde *Alchornea* na FODM durante a estação seca apresentou menores valores (0.16 mm). A densidade da madeira (DM) variou de 0.30 a 0.50 g cm⁻³. *Rustia* e *Mollinedia* apresentaram os maiores valores em ambas as altitudes (Tabela 1).

Na variação entre estações em cada altitude para cada espécie foram poucas as diferenças significativas e ocorreram apenas na FODTB. *Rustia* apresentou os maiores valores durante a estação seca em relação à VH e CAF. *Alchornea* apresentou os maiores valores de DEN e ESP também na estação seca. A área foliar não apresentou diferenças em nenhuma das comparações (entre altitudes ou estações; dados não mostrados). *Rustia* foi a única espécie a apresentar diferenças quanto a área de xilema ativo (dados não

mostrados), onde ocorreu uma redução significativa de 0.35 para 0.14 m² durante a estação seca na FODTB.

Fluxo de Seiva

Para a análise dos dados de fluxo de seiva, foram selecionados dados correspondentes a 30 dias de cada uma das estações como apresentando na Figura 2. Durante os três períodos avaliados, a média do volume de água utilizado foi maior na FODTB variando de 24.83 na a 737.34 litro.dia⁻¹. Na FODM, a variação foi de 2.09 a 54.91 litro.dia⁻¹ (Tabela 2). Na FODTB, o estrato ocupado por cada uma das espécies não foi determinante para o volume de água utilizado nos três períodos avaliados. Em ordem decrescente, a média do volume utilizado de água foi *Hyeronima*>*Rustia*>*Alchornea*>*Mollinedia*. No caso da FODM, a média do volume de água utilizado por dia correspondeu ao estrato ocupado por cada espécie (*Alchornea*>*Hyeronima*>*Rustia*>*Mollinedia*).

As regressões lineares entre fluxo de água e área projetada da copa foram significativas nas duas altitudes e nos três períodos avaliados com exceção da FODM na estação seca de 2008 (Figura 3). Durante a estação chuvosa, não houve diferenças significativas dos coeficientes angulares e lineares entre altitudes indicando similaridade no uso de água entre florestas neste período. Ao passo que a FODTB não apresentou diferenças entre estações, a FODM foi mais suscetível à mudança nos períodos secos quando houve alterações nos coeficientes angulares e lineares (Figura 3). Os dados de fluxo de água foram normalizados pelos valores de área projetada da copa para comparar o uso de água de cada uma das espécies independentemente do tamanho do indivíduo.

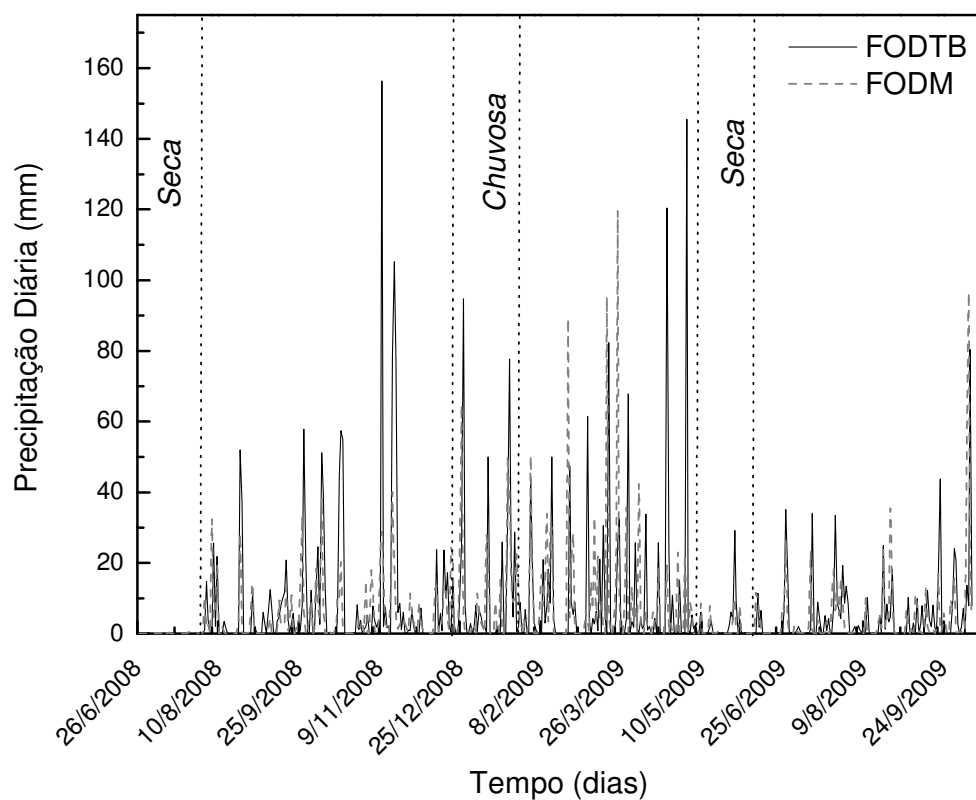


Figura 2. Precipitação (mm) diária durante todo o período de estudo. Estão selecionados os períodos utilizados para análise dos dados de fluxo de água do xilema.

Tabela 2. Volume (litros) de água transportada por dia para cada espécie entre altitudes e estações. Os valores são médias $\pm$ erro padrão.

	Seca 2008		Chuvosa		Seca 2009	
	Terras Baixas	Montana	Terras Baixas	Montana	Terras Baixas	Montana
<i>Alchornea</i>	47.02 $\pm$ 16.35	50.83 $\pm$ 24.69	60.75 $\pm$ 25.73	29.06 $\pm$ 12.29	24.83 $\pm$ 21.75	54.91 $\pm$ 18.37
<i>Hyeronima</i>	737.34 $\pm$ 114.69	26.89 $\pm$ 4.77	525.87 $\pm$ 72.53	9.35 $\pm$ 0.41	323.30 $\pm$ 99.48	22.04 $\pm$ 1.77
<i>Mollinedia</i>	36.21 $\pm$ 21.87	6.76 $\pm$ 2.37	34.20 $\pm$ 24.16	2.09 $\pm$ 0.72	14.00 $\pm$ 7.21	5.23 $\pm$ 1.92
<i>Rustia</i>	77.45 $\pm$ 34.94	12.36 $\pm$ 2.96	79.67 $\pm$ 39.61	2.42 $\pm$ 0.55	66.87 $\pm$ 31.95	8.47 $\pm$ 1.76

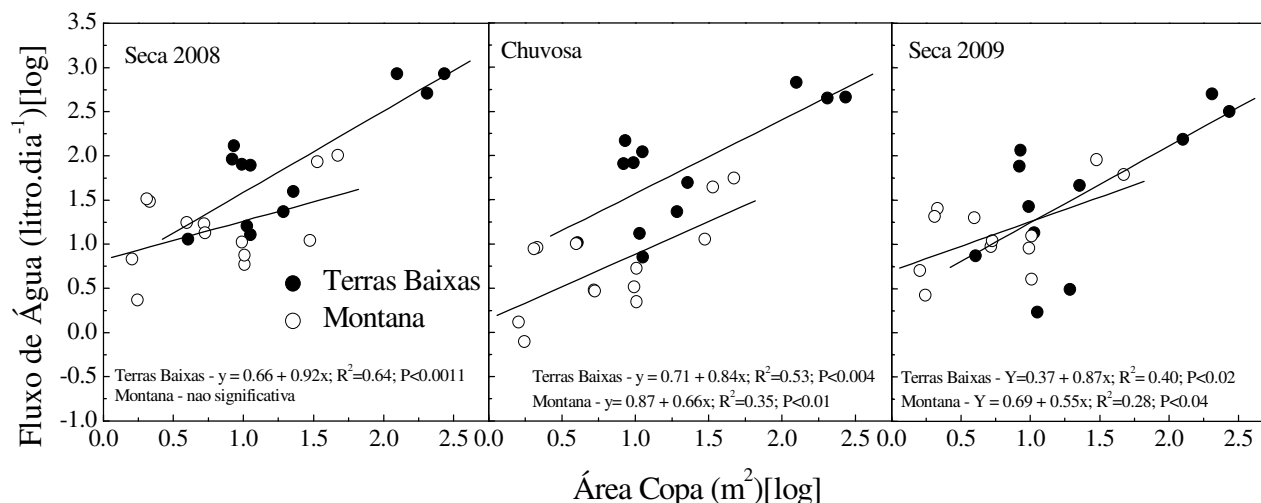


Figura 3. Comparação da relação entre fluxo de água (litros.dia⁻¹) e área da copa entre altitudes nas estações seca de 2008 e 2009 e chuvosa. Cada ponto representa o total de uso de água de cada indivíduo por altitude.

Para visualizar o comportamento de uso de água de cada uma das espécies em cada altitude foram selecionados quatro dias de cada estação avaliada. Em todos os casos o DPV decresceu do dossel até o sub-bosque (Figura 4 e 5). Os dados de amperagem referentes ao carregamento da bateria pelo painel solar apresentaram correspondência positiva com os dados de DPV atestando que podem ser utilizados como aproximação para radiação solar. Devido a problemas eletrônicos durante a estação seca de 2009 não houve registro de amperagem na FODTB. Apesar de *Hyeronima* ter apresentado os maiores volumes de água na FODTB, os dados normalizados mostraram que *Rustia* apresentou os maiores valores nos três períodos estudados (Figura 4). Na estação seca de 2008 e na chuvosa, *Hyeronima* é ultrapassada por *Mollinedia* que havia apresentado os menores volumes de água (Tabela 2). Houve uma tendência de maiores fluxos de água na estação chuvosa onde os valores foram maiores em relação a estação seca de 2008. Na

seca de 2009, as espécies apresentaram menores valores. Na FODM, *Hyeronima* apresentou os maiores valores normalizados, seguida por *Rustia*>*Alchornea*>*Mollinedia*. Ao contrário do observado na FODTB, os maiores fluxos foram observados nas estações secas de 2008 e 2009 enquanto a estação chuvosa apresentou os menores valores (Figura 5).

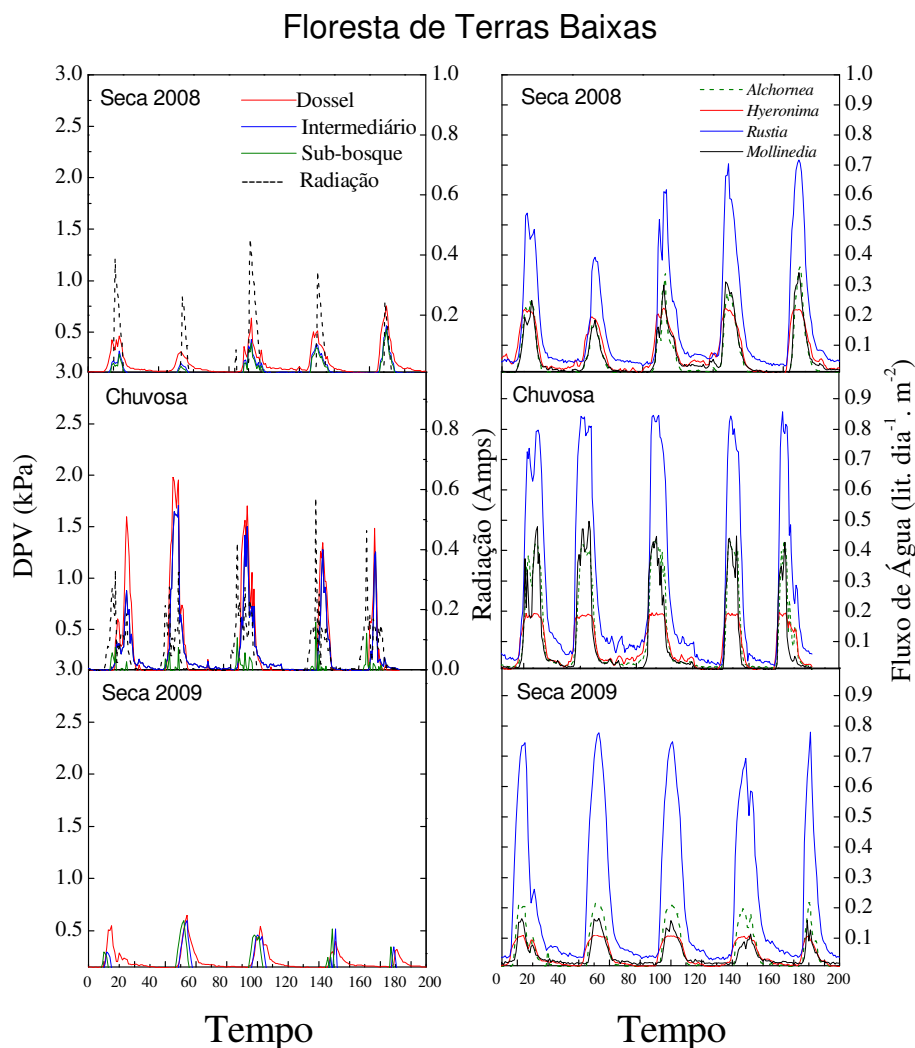


Figure 4. DPV e radiação nos três estratos (dossel, intermediário e sub-bosque) e fluxo de água, nas quatro espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa de Terras Baixas em um intervalo de cinco dias.

Floresta Montana

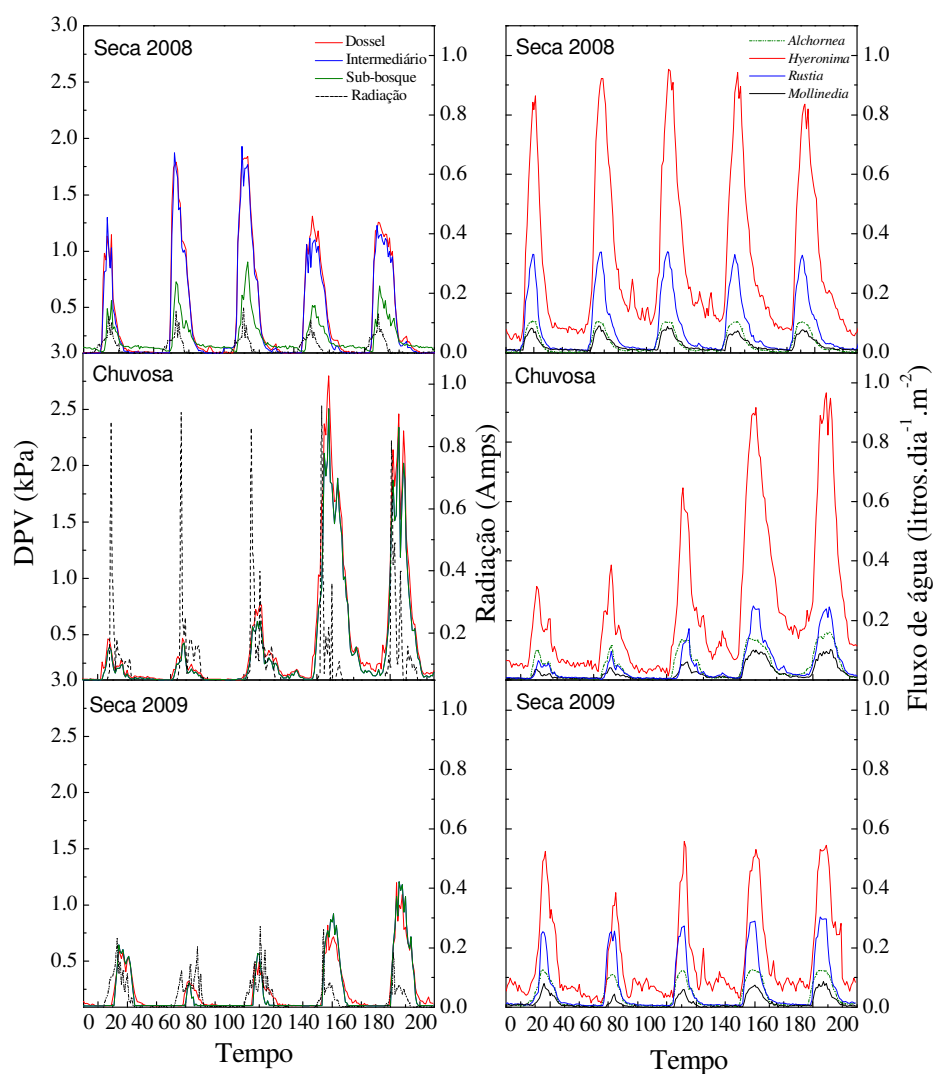


Figura 5. DPV e radiação nos três estratos (dossel, intermediário e sub-bosque) e fluxo de água, nas quatro espécies estudadas na Floresta Ombrófila Densa Montana em um intervalo de cinco dias.

As espécies apresentaram histerese no sentido horário em ambas as altitudes e estações (dados não mostrados). A área de histerese foi significativamente diferente apenas para *Hyeronima* na estação seca de 2008 com maiores valores na FODM (Figura 6). Apesar de não haver diferenças significativas nos demais casos, houve uma tendência

geral de maiores valores na estação seca de 2008, intermediários na chuvosa e menores valores na seca de 2009. Além disso, *Alchornea*, *Mollinedia* e *Rustia* apresentaram tendência de maiores áreas de histerese na FODTB (Figura 6).

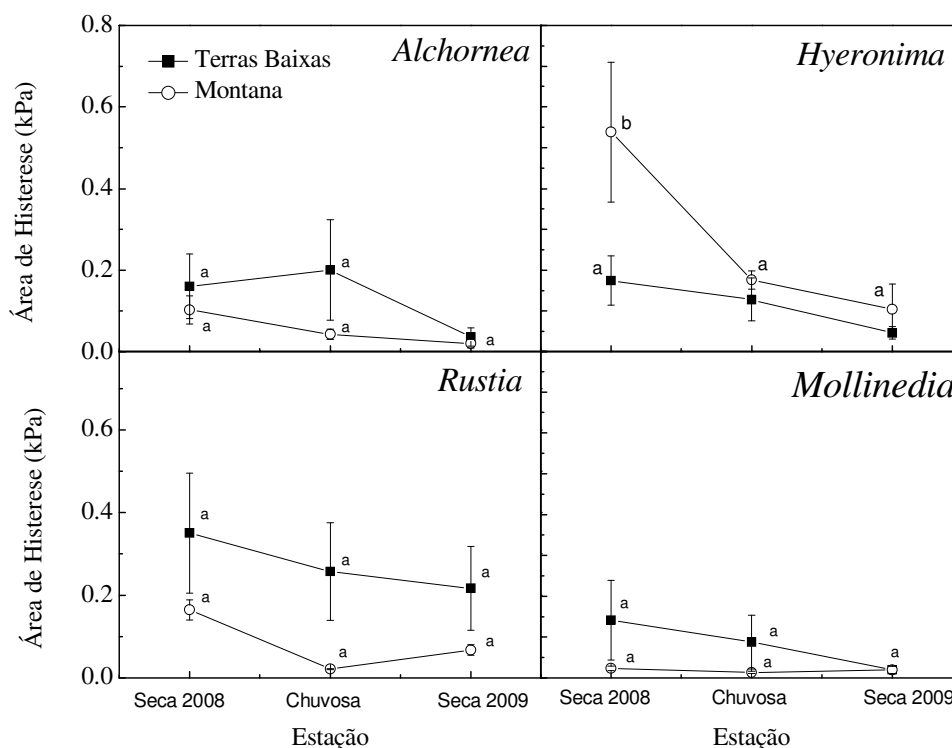


Figura 6. Comparação da área de histerese estimada a partir dos gráficos de fluxo de água, DPV e radiação. Letras diferentes apontam diferenças significativas dentro de cada espécie (Tukey, ANOVA, $p < 0.05$).

Os valores de CT foram maiores na FODTB chegando em torno de $13 \text{ lit.dia}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{kPa}^{-1}$ enquanto a FODM não apresentou valores superiores a $5.0 \text{ lit.dia}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{kPa}^{-1}$ (Figura 7). Na FODTB, *Mollinedia* e *Rustia* apresentaram valores maiores de CT em comparação a *Alchornea* e *Hyeronima* tanto na estação seca (~ 5.0 e ~ 7.5 ; ~ 1.5 e $\sim 3.0 \text{ lit.dia}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{kPa}^{-1}$, respectivamente), quanto na chuvosa (~ 11 e ~ 13.5 ; ~ 7.5 e $\sim 3.0 \text{ lit.dia}^{-1} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{kPa}^{-1}$, respectivamente). Na FODM, *Alchornea*, *Mollinedia* e *Rustia* apresentaram

valores que não ultrapassaram $1.5 \text{ lit.dia}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{kPa}^{-1}$, enquanto *Hyeronima* apresentou valores em torno de $3.0 \text{ lit.dia}^{-1}.\text{m}^{-2}.\text{kPa}^{-1}$.

Na comparação entre estações, todos os indivíduos de *Alchornea* apresentaram aumentos significativos de CT em ambas as altitudes (Tabela 3). Na FODTB este aumento de CT da seca para a chuvosa chegou a 76% (Tabela 3). Nas demais espécies da FODTB não houve padrão claro de variação de CT já que *Hyeronima* e *Mollinedia*, por exemplo, apresentaram indivíduos com respostas opostas entre estações (Tabela 3). Na FODM, três indivíduos de *Rustia* e dois de *Mollinedia* apresentaram redução significativa de CT durante a estação chuvosa. *Hyeronima*, tal como observado na FODTB, não apresentou padrão claro de resposta (Tabela 3).

Análise de Componente Principal

Na FODTB, o primeiro, segundo e terceiro eixos da ACP explicaram 46.66, 28.04 e 16.20%, respectivamente, da variação entre espécies e estações (Tabela 3; Figura 7). As variáveis que apresentaram maior contribuição no primeiro eixo foram área específica foliar (AEF), valor de huber (VH), repelência hídrica foliar (RHF), conteúdo de água foliar (CAF) e fluxo máximo de água ($F_{\text{máx}}$; Tabela 3). Espessura foliar (ESP) e exposição da copa (EC) apresentaram maior contribuição no segundo eixo enquanto a contribuição da densidade da madeira (DM) surgiu apenas no terceiro eixo (Tabela 3). O deslocamento das espécies da estação chuvosa para a seca, no espaço multivariado, ocorreu ao longo do primeiro eixo para *Rustia* e *Mollinedia* enquanto as espécies de dossel *Alchornea* e *Hyeronima* apresentaram deslocamento ao longo do segundo eixo (Figura 7). Relações positivas entre os atributos foram observadas entre $F_{\text{máx}}$, CAF e VH

(positivamente associadas com o deslocamento multivariado de *Rustia* entre estações) e entre EC e RHF (Figura 7). Apenas *Mollinedia*, em ambas as estações, esteve positivamente associada a DM (Figura 7).

Tabela 3. Variações nos valores máximos de condutância total, em porcentagem, em cada indivíduo de cada espécie. A direção e cor das setas indicam se houve aumento (↑) ou diminuição (↓) da condutância total da estação seca para a chuvosa. Asteriscos indicam diferença significativa entre estações (Teste-t pareado, $P < 0.05$).

Espécie	Indivíduo	%	
		Floresta Terras Baixas	Floresta Montana
<i>Alchornea</i>	1	↑64.2*	↑51.2*
	2	↑76.1*	↑63.7*
	3	↑45.6*	↑40.4*
<i>Hyeronima</i>	1	↑28.4*	↑52.6*
	2	↓27.2*	↓2.1
	3	↑19.4	↓33.2*
<i>Mollinedia</i>	1	↓22.9	↓44.1*
	2	↓14.7*	↓35.2*
	3	↑37.3*	↑5.0
<i>Rustia</i>	1	↑21.7	↓69.9*
	2	↓17.2	↓42.1*
	3	↑16.1*	↓57.5*

Na FODM, o primeiro e segundo eixos da ACP explicaram 42.87, 39.17 e 12.39%, respectivamente, da variação entre espécies e estações. $F_{\text{máx}}$, CAF, EC, ESP e VH apresentaram maior contribuição no primeiro eixo. No segundo eixo, AEF, EC, DM e RHF apresentaram maior contribuição. No terceiro eixo, $F_{\text{máx}}$ e CAF foram os atributos com maior contribuição de variação das espécies. O deslocamento das espécies da estação chuvosa para a seca, no espaço multivariado, ocorreu ao longo do primeiro eixo

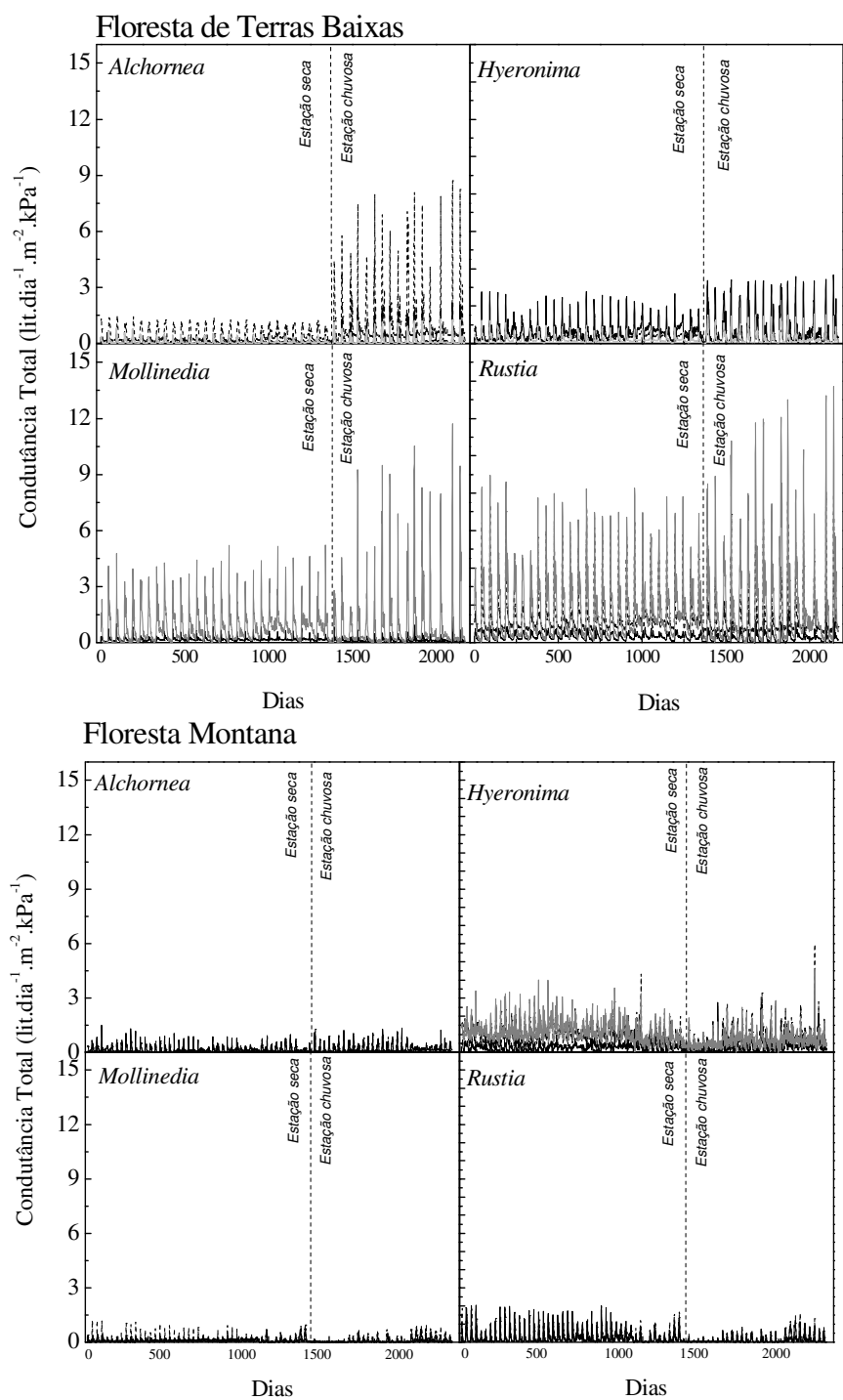


Figura 7. A condutância total (a cada 30 minutos) de cada indivíduo de cada espécie em cada um das florestas estudadas. A linha tracejada em cada painel separa as estações seca (2008) e chuvosa. Em cada painel, os indivíduos estão representados por linhas diferentes (1 — ; 2 ----; 3—) que correspondem aos mesmos números encontrados na tabela 3.

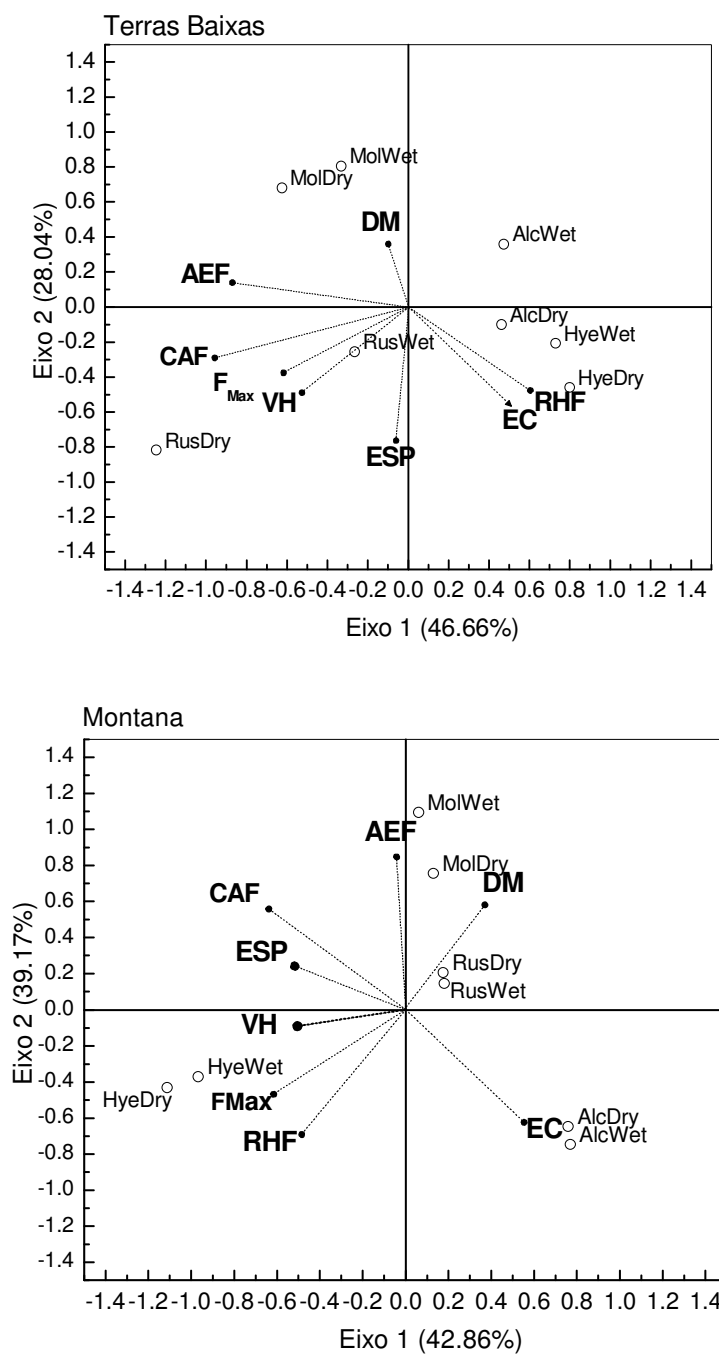


Figura 7. Ordenação de análise de componente principal, para floresta de terras baixas e montana, baseada em 8 características de 4 espécies em duas estações. As siglas das variáveis são as mesmas apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3. Auto-valores de cada um dos atributos utilizados nas análises de componentes principais em cada uma das altitudes. Estão apresentados os três primeiros eixos e em negrito os atributos com maior poder explicativo em cada eixo. Os atributos são área específica foliar (AEF), valor de huber (VH), repelência hídrica foliar (RHF), conteúdo de água foliar (CAF), fluxo máximo de água ($F_{\text{máx}}$), exposição da copa (EC), densidade da madeira (DM) e espessura foliar (ESP).

T. Baixas	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3	Montana	Eixo 1	Eixo 2	Eixo 3
atributos	46.65%	28.03%	16.19%	atributos	42.87%	39.17%	12.39%
AEF	-0.9202	0.17106	0.12673	F_{Max}	-0.873	-0.414	0.035
VH	-0.8331	-0.4603	0.10405	CAF	-0.803	0.581	0.064
RHF	0.80335	-0.5531	0.06093	EC	0.716	-0.683	0.087
CAF	-0.7754	-0.4502	0.39259	ESP	-0.712	0.278	-0.606
F_{Max}	-0.7649	-0.4051	-0.4123	VH	-0.658	-0.063	0.723
EC	0.56993	-0.6114	0.52125	RHF	-0.593	-0.795	0.076
DM	-0.1879	0.51285	0.81725	DM	0.458	0.776	0.262
ESP	-0.0049	-0.8319	0.03702	AEF	-0.084	0.918	0.118

apenas em *Hyeronima* enquanto *Alchornea*, *Rustia* e *Mollinedia* variaram ao longo do segundo eixo. Relações positivas entre os atributos foram observadas entre $F_{\text{máx}}$, HV e RHF (positivamente associadas com o deslocamento multivariado de *Hyeronima* entre estações) e entre ESP e CAF (Figura 7). $F_{\text{máx}}$, HV e RHF apresentaram tendência de associação negativa com DM (Figura 7). As espécies de sub-dossel e sub-bosque, *Rustia* e *Mollinedia*, em ambas as estações, estiveram positivamente associadas a AEF e DM (Figura 7).

Discussão

Em linhas gerais, o volume total de água utilizado pelas plantas está positivamente associado ao tamanho dos indivíduos (Meinzer et al. 2001). O aumento no fluxo de água em função de características ligadas ao tamanho da planta (i.e. área da copa e DAP) são considerados como robustos indicadores da área de xilema ativo (Meinzer 2001). Portanto, maiores indivíduos apresentarão maiores volumes de água transportados (Meinzer 2001, Motzer 2005). Apesar da diminuição do volume de água transportado na FODM nas quatro espécies estudadas, isso se deve apenas ao fato dos indivíduos estudados na FODM serem menores. De qualquer modo, é importante ressaltar que em termos de volume de água transportada por dia, os valores observados no nosso estudo (de 2.09 a 737 lit.dia⁻¹) abarcam a ampla variação encontrada em outras florestas. Em floresta de terras baixas no Panamá, foram registrados entre 380 lit.dia⁻¹ (Andrade et al.1998) e 750 lit.dia⁻¹ (James et al. 2002) e entre 250 e 300 lit.dia⁻¹ na Guiana Francesa (Granier et al., 1996). Os estudos realizados em florestas montanas tropicais também mostram grande variabilidade com valores entre 5 e 35 lit.dia⁻¹ (Santiago et al. 2000), entre 10 e 110 lit.dia⁻¹ (Zotz et al. 1998) e em torno de 372 lit.dia⁻¹ (Kline et al. 1970).

A comparação das espécies, a partir da normalização do fluxo de água pela área projetada da copa, indica que o grau de exposição da copa e o estrato ocupado por cada espécie não estiveram diretamente associados ao volume de água transportado nas duas altitudes. A similaridade das relações entre área de copa de fluxo de água nas duas altitudes durante a estação chuvosa indica que em períodos mais favoráveis, o comportamento dos indivíduos entre altitudes é similar. No entanto, durante os períodos secos, as diferenças de funcionamento em termos de uso de água podem ter se dado em

função de restrições à perda de água e ajustes hidráulicos para otimizar o uso da água (Xu e Cohen 2005). Tais ajustes podem estar associados a variações em atributos morfológicos como será descrito na próxima seção.

Apesar do DPV ter sido mais importante na determinação do fluxo transpiracional do que a radiação (estimada a partir dos dados de amperagem dos painéis solares), a estratificação vertical do DPV nas duas altitudes não acarretou em diferenças no fluxo de água de acordo com o estrato ocupado. Mesmo que aumentos na radiação solar ocorram primeiro que o DPV em ambas as altitudes, nos três períodos analisados, as espécies se mostraram mais sensíveis à variação do DPV fazendo com que o início do fluxo transpiracional ocorresse no sentido horário tal como ilustrado na figura 1. Fluxos de água no sentido horário ocorrem porque, durante a manhã, para um dado valor de DPV, a radiação será maior do que no período da tarde e, portanto, o fluxo de água será maior no início do dia (Zeppel et al. 2004). Embora fossem esperadas maiores histereses na FODM, em função de maiores DPV e radiação, sugerimos que a maior proporção de raízes finas na FODM (capítulo 1) possa ter aumentado a absorção de água, minimizando riscos de embolia e diminuindo, portanto, a área de histerese (Nepstad et al. 1994; Williams et al. 1998; Zeppel et al 2004). Na FODM, o fato de *Hyeronima* ter sido a única espécie a apresentar área de histerese significativamente maior na estação seca de 2008 pode ser atribuído ao maior VH e $F_{máx}$, que apresentaram associação positiva na ACP. Maior VH, associado ao maior grau de exposição da copa em *Hyeronima*, poderia levar a maiores perdas de água durante a manhã acarretando maiores declínios de potencial hídrico foliar o que levaria à maior histerese devido a forte fechamento estomático durante a tarde (Gotsch et al. 2010).

Além do maior investimento em raízes finas, os baixos valores de CT na FODM, em relação a FODTB, indicam que os maiores DPVs e radiação na FODM impõem um maior controle nas perdas de água em função da existência de ajustes estomáticos ao longo de todo o dia. Portanto, ao contrário do observado na literatura, sugerimos que menores histereses também podem refletir restrições à perda de água (Williams et al. 1998; Zeppel et al 2004). Menor diferença entre grau de abertura estomática entre manhã e tarde também pode ser indicativo de fortes restrições estomáticas ao longo de todo o dia mesmo em florestas montanas (Rada et al., 2009), favorecendo a existência de menores histereses. As reduções na transpiração noturna na FODM, seja em função de um controle fisiológico ou abiótico (capítulo 3), também reforçam esta ideia de maiores restrições à noite permitem restrições a perda d'água no início do dia (Dawson et al., 2007). Na comparação entre estações, *Alchornea* foi a única espécie a apresentar padrões de resposta similares em ambas as altitudes, indicando ajustes para minimizar a perda de água durante a estação seca independentemente das diferenças de DPV e radiação entre florestas. Na FODM, a redução de CT em *Rustia* e *Mollinedia*, espécies com menor grau de exposição da copa, pode ter ocorrido em função do aumento de eventos de neblina que diminuiria a diferença de demanda evaporativa para a transpiração. Cabe ressaltar que apesar da neblina ser capaz de diminuir a intensidade dos fluxos, ela não parece ser uma fonte de água significativa para a FODM (Grosso, 2010).

Em termos comparativos, as áreas de histerese observadas neste estudo (entre 0.02 e 0.58 kPa) foram menores do que as observadas em estudo realizado por Zeppel et al. (2004) com *Callitris glaucophylla* e *Eucalyptus cebra* na Austrália, onde os valores ficaram entre 0.30 e 1.2 kPa. No estudo realizado por Zeppel et al. (2004), a baixa média

de precipitação anual (680 mm) e os elevados valores de DPV (~2.5 kPa) podem resultar nas maiores histereses ao contrário das observadas no nosso estudo onde as precipitações anuais são maiores (~2000 mm) e os DPVs menores. No entanto, é importante ressaltar que mesmo em condições em princípio mais favoráveis na Mata Atlântica, há a ocorrência de histereses nas espécies e que os valores de histerese observados apresentam um grau de sobreposição com das espécies do *open woodland*. Isto indica que mesmo com menores DPVs e maior precipitação em relação ao *open woodland*, as espécies da Mata Atlântica apresentam um elevado grau de suscetibilidade a pequenas variações na disponibilidade hídrica.

Características Morfológicas

Mudanças em características morfológicas foliares são comumente observadas ao longo de variações altitudinais, em função das variações nas condições ambientais (Grubb 1977; Velázquez-Rosa et al 2002; Macek et al. 2009; Navarro et al 2010). Como observado na literatura, as condições ambientais de florestas montanas (i.e. maiores radiação e DPV, menor pressão atmosférica e presença de neblina) fazem com que as plantas estejam submetidas a condições semelhantes aquelas de plantas que ocorrem em ambientes secos (Leuschner 2000). A tendência de menores AEF, que reflete maior investimento na folha em termos de carbono, associado a maiores DEN na FODM, indicam o investimento em folhas com maior durabilidade o que pode levar a maiores longevidades foliares e maior eficiência no uso da água e nutriente (Brujinzeel e Veneklaas 2000). Além disso, levando-se em conta as maiores radiações e DPV observados na FODM (Rosado et al. 2010) os menores VH e AEF indicam ajustes

hidráulicos associados à minimização do risco de embolia (Sellin e Kupper 2006; Wright et al. 2006).

Em ambientes mais sombreados, com menor radiação e DPV (Motzer 2005; Barigah et al. 2006), a alocação de recursos em área foliar tende a ser maior para maximizar a absorção da energia luminosa do que em tecidos vasculares para suprir uma baixa demanda de transporte de água, o que levaria a maiores VH (Callaway et al. 2000; Barigah et al. 2006; Schoonmaker et al. 2010). Desta forma, tem se observado que plantas de ambientes sombreados tendem a ser mais suscetíveis à cavitação do que plantas de dossel (Barigah et al. 2006; Schoonmaker et al. 2010). Considerando a maior declividade do terreno na FODM (Martins, 2010), que permitiria maior entrada de radiação no sub-bosque e os maiores DPV, os menores VH de *Rustia* e *Mollinedia*, espécies de sub-dossel e sub-bosque, respectivamente, significativamente mais baixos do que na FODTB indicam ajustes hidráulicos associados à minimização da cavitação.

Ajustes hidráulicos associados a maior radiação e DPV levariam aos menores fluxos de água observado nestas duas espécies na FODM. Em suporte a estes resultados, foi observado que *Rustia* e *Mollinedia* apresentaram aumentos significativos na repelência hídrica foliar na FODM, o que parece estar associado a um mecanismo de minimização da perda de água (Rosado et al., 2010). Apesar de *Mollinedia* ter apresentado tendência de maior DM nas duas florestas, isto não estão diretamente ligado à resistência a cavitação (Hacke et al. 2001) já que características como o calibre das pontoações pode ter maior importância (Schoonmaker et al. 2010). No entanto, tal como observado para outras plantas de sombra em florestas tropicais, maiores DM podem levar

a maiores taxas de sobrevivência devido ao aumento de resistência a queda de detritos e invasão por patógenos (Chave et al 2009).

Relação multivariada entre atributos morfológicos e fluxo de água entre estações

Embora diferentes conjuntos de atributos tenham explicado a variação entre espécies e estações em ambas as altitudes, CAF e VH foram os atributos que estiveram positivamente associados ao $F_{\text{máx}}$ independentemente da altitude. Este resultado indica que independentemente das diferenças entre condições ambientais e espécies, há uma convergência funcional na relação entre atributos que afetam $F_{\text{máx}}$ (Meinzer 2001, 2003). Na FODTB e FODM, *Rustia* e *Hyeronima*, respectivamente, foram as espécies que apresentaram associação positiva com $F_{\text{máx}}$, VH e CAF especialmente durante a seca. Em ambas as altitudes, estas duas espécies apresentaram maiores VH e, no caso de *Rustia*, o VH aumentou da estação chuvosa para a seca. Maiores VH atuam como uma das principais forças motrizes para $F_{\text{máx}}$ o que associado aos maiores VPD durante a seca explicariam a associação entre VH e $F_{\text{máx}}$ (Gotsch et al. 2010).

Embora a magnitude do fluxo de água na FODTB não esteja associado ao estrato ocupado por cada espécie, as espécies apresentaram diferenças morfológicas que estiveram associadas ao estrato ocupado, o que explicaria o fato de AEF ter sido o atributo com maior contribuição no primeiro eixo. No caso da FODM, os maiores DPVs e radiação solar que atuam como importantes fatores na magnitude do fluxo de água podem explicar o fato de $F_{\text{máx}}$ ter sido o atributo com maior contribuição no primeiro eixo.

Conclusão

Embora o funcionamento da FODTB e FODM, em termos de uso de água, seja similar em períodos favoráveis, períodos de menor disponibilidade hídrica acarretaram ajustes associados ao uso de água especialmente na FODM. Tal como observado em outros estudos, o estrato ocupado pelas espécies afetou a variação vertical de atributos morfológicos (Williams et al. 1989; Beaumont et al. 2009; Rosado et al, 2010). No entanto, o fluxo de água não apresentou correspondência com o estrato ocupado, mas com o efeito integrado dos atributos morfológicos, condições atmosféricas e raízes finas. Apesar de das diferenças no volume de água transportada em função do tamanho das plantas, estes resultados se opõem a uma série de estudos que tem apontado tamanho da planta e exposição da copa, independentemente da identidade da espécie, como os principais fatores determinantes que afetam o fluxo de água. Embora se assuma que os principais fatores limitantes em Florestas tropicais chuvosas sejam luz e nutrientes, este estudo demonstra importantes ajustes associados ao uso água, especialmente no caso das espécies de sub-bosque e sub-dossel, que apresentaram indicativos de maior vulnerabilidade à diminuição da disponibilidade hídrica.

Referências

- Andrade, J.L., Meinzer, F., Goldstein, G., Holbrook, N.M., Cavelier, J., Jackson, P., & Silvera, K. (1998) Regulation of water flux through trunks, branches, and leaves in trees of a lowland tropical forest. *Oecologia*, 115, 463– 471.
- Barigah, T.S., Ibrahim, T., Bogard, A., Faivre-Vuillin, B., Lagneau, L.A., Montpied, P., & Dreyer, E. (2006) Irradiance-induced plasticity in the hydraulic properties of

saplings of different temperate broad-leaved forest tree species. *Tree Physiol*, 26, 1505-1516.

Barker, M. & Becker, P. (1995) Sap flow rate and sap nutrient content of a tropical rain forest canopy species, *Dryobalanops aromatica*, in Brunei. *Selbyana*, 16, 201-211.

Beaumont, S. & Burn, K.C. (2009) Vertical gradients in leaf trait diversity in a New Zealand forest. *Trees*, 23, 339-346.

Bruijnzeel, L.A. & Veneklaas, E.J. (1998) Climatic conditions and tropical montane forest productivity: the fog has not lifted yet. *Ecology*, 79, 3-9.

Bucci, S.J., Goldstein, G., C.Meinzer, F., Franco, A.C., Campanello, P., & G.Scholz, F. (2005) Mechanisms contributing to seasonal homeostasis of minimum leaf water potential and predawn disequilibrium between soil and plant water potential in Neotropical savanna trees. *Trees*, 19, 296-304

Burgess, S.S.O., Adams, M.A., Turner, N.C., & Ong, C.K. (1998) The redistribution of soil water by tree root systems. *Oecologia*, 115, 306-311.

Burgess, S.S.O., Adams, M.A., Turner, N.C., Beverly, C.R., Ong, C.K., Khan, A.A.H., & Bleby, T.M. (2001) An improved heat pulse method to measure low and reverse rates of sap flow in woody plants. *Tree Physiology*, 21, 589–598.

Burgess, S.S.O. & Dawson, T.E. (2004) The contribution of fog to the water relations of *Sequoia sempervirens* (D. Don): foliar uptake and prevention of dehydration. *Plant, Cell and Environment*, 27, 1023–1034.

Burgess, S.S.O. (2006) Measuring transpiration responses to summer precipitation in a Mediterranean climate: a simple screening tool for identifying plant water-use strategies. *Physiologia Plantarum*, 127, 404-412.

- Callaway, R.M., Sala, A., & Keane, R.E. (2000) Succession May Maintain High Leaf Area: Sapwood Ratios and Productivity in Old Subalpine Forests. *Ecosystems*, 3, 254-268.
- Casper, B.B., Forseth, I.N., Kempenich, H., Seltzer, S., & Xavier, K. (2001) Drought prolongs leaf life span in the herbaceous desert perennial *Cryptantha flava*. *Functional Ecology*, 15, 740-747.
- Cavender-Bares, J., Sack, L., & Savage, J. (2007) Atmospheric and soil drought reduce nocturnal conductance in live oaks. *Tree Physiol*, 27, 611-620.
- Chabot, B.F. & Hicks, D.J. (1982) The ecology of leaf life spans. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 13, 229-259.
- Chave, J., Coomes, D., Jansen, S., Lewis, S.L., Swenson, N.G., & Zanne, A.E. (2009) Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecology Letters*, 12, 351-366.
- Clark, D. & Clark, D. (1992) Life history diversity of canopy and emergent trees in a neotropical rain forest. *Ecological Monographs*, 62, 315-344.
- Collatz, G.J., Ball, J.T., Grivet, C., & Berry, J.A. (1991) Physiological and Environmental-Regulation of Stomatal Conductance, Photosynthesis and Transpiration - A Model That Includes a Laminar Boundary-Layer. *Agricultural and Forest Meteorology*, 54, 107-136.
- Dawson, T.E., Burgess, S.S.O., Tu, K.P., Oliveira, R.S., Santiago, L.S., Fisher, J.B., Simonin, K.A., & Ambrose, A.R. (2007) Nighttime transpiration in woody plants from contrasting ecosystems. *Tree Physiology*, 27, 561-575

- Dolman, A.J., Gash, J.H.C., Roberts, J., & Shuttleworth, W.J. (1991) Stomatal and surface conductance of tropical rainforest. *Agricultural and Forest Meteorology*, 54, 303-318.
- Ehleringer, J.R. & Monson, R.K. (1993) Evolutionary and ecological aspects of photosynthetic pathway variation. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 24, 411-439.
- Felsenstein, J. (1985) Phylogenies and The Comparative Method. *American Naturalist*, 125, 1-15.
- Gotsch, S., Geiger, E., Franco, A., Goldstein, G., Meinzer, F., & Hoffmann, W. (2010) Allocation to leaf area and sapwood area affects water relations of co-occurring savanna and forest trees. *Oecologia*, 163, 291-301.
- Grace, J., Fasehun, F.E., & Dixon, M. (1980) Boundary layer conductance of the leaves of some tropical timber trees. *Plant Cell and Environment*, 3, 443-450.
- Graham, E.A., Mulkey, S.S., Kitajima, K., Phillips, N.G., & Wright, S.J. (2005) Cloud cover limits net CO₂ uptake and growth of a rainforest tree during tropical rainy seasons. *Proceedings National Academy of Sciences*, 100, 572-576.
- Granier, A., Biron, P., Bréda, N., Pontailleur, J.-Y., & Saugier, B. (1996) Transpiration of trees and forest stands: short and long-term monitoring using sapflow methods. *Global Change Biology*, 2, 265-274.
- Grosso, J.D. (2010) Caracterização hidrológica dinâmica do nitrogênio em uma microbacia com cobertura florestal (Mata Atlântica), no Parque Estadual da Serra do Mar, núcleo Santa Virgínia. Doutorado, USP, Piracicaba.
- Grubb, P.J. (1977) Control of forest growth and distribution on wet tropical mountains: with Special Reference to Mineral Nutrition. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 8, 83-107.

- Hacke, U.G., Sperry, J.S., Pockman, W.T., Davis, S.D., & Mcculloh, K.A. (2001) Trends in wood density and structure are linked to prevention of xylem implosion by negative pressure. *Oecologia*, 126, 457-461.
- James, S.A., M.J. Clearwater, F.C. Meinzer and G. Goldstein. 2002. Heat dissipation sensors of variable length for the measurement of sap flow in trees with deep sapwood. *Tree Physiol.* 22:277–283.
- Jarvis, P.G. & McNaughton, K.G. (1986). Stomatal control of transpiration: scaling up from leaf to region. In *Advances in Ecological Research* (eds A. Macfadyen & E.D. Ford), Vol. 15, pp. 1-49.
- Kline, J.R., J.R.Martin, C.F. Jordan and J.J. Koranda. 1970. Measurement of transpiration in tropical trees with tritiated water. *Ecology* 51:1068–1073.
- Körner, C. (2007) The use of ‘altitude’ in ecological research. *Trends in Ecology and Evolution*, 22, 569-574.
- Lambers, H. & Poorter, H. (1992) Inherent variation on growth rate between higher plants: a search for physiological causes and ecological consequences. *Advances in Ecological Research*, 23, 187-260.
- Leuschner, C. (2000) Are high elevations in tropical mountains arid environments for plants? *Ecology*, 81, 1425-1436.
- Macek, P., Mackova, J., & Bello, F.d. (2009) Morphological and ecophysiological traits shaping altitudinal distribution of three *Polylepis* treeline species in the dry tropical Andes. *Acta Oecologica*, 35, 778-785.
- Marks, C.O. & Lechowicz, M.J. (2007) The ecological and functional correlates of nocturnal transpiration. *Tree Physiology*, 27, 577-584

- Martins, S.C. (2010) Caracterização dos solos e serapilheira ao longo do gradiente altitudinal da Mata Atlântica, estado de São Paulo. Tese Doutorado, USP, Piracicaba, SP.
- Meinzer, F. (1993) Stomatal control of transpiration. *Trends in Ecology and Evolution*, 8, 289-294.
- Meinzer, F.C., Goldstein, G., Jackson, P., Holbrook, N.M., Gutiérrez, M.V., & Cavelier, J. (1995) Environmental and Physiological Regulation of Transpiration in Tropical Forest Gap Species: The Influence of Boundary Layer and Hydraulic Properties. *Oecologia*, 101, 514-522.
- Meinzer, F.C., Andrade, J.L., Goldstein, G., N.M.Holbrook, Cavelier, J., & Jackson, P. (1997) Control of transpiration from the upper canopy of a tropical forest: the role of stomatal, boundary layer and hydraulic architecture components. *Plant, Cell and Environment*, 20, 1241-1252
- Meinzer, F.C., Goldstein, G., & Andrade, J.L. (2001) Regulation of water flux through tropical forest canopy trees: Do universal rules apply? *Tree Physiology*, 21, 19–26.
- Meinzer, F. (2003) Functional Convergence in plant responses to the environment. *Oecologia*, 134, 1-11.
- Motzer, T., Munz, N., Küppers, M., Schmitt, D., & Anhuf, D. (2005) Stomatal conductance, transpiration and sap flow of tropical montane rain forest trees in the southern Ecuadorian Andes. *Tree Physiology*, 25, 1283–1293.
- Navarro, T., El Oualidi, J., Taleb, M., Pascual, V., Cabezudo, B., & Milla, R.n. (2010) Leaf patterns, leaf size and ecologically related traits in high Mediterranean mountain on the Moroccan High Atlas. *Plant Ecology*, 210: 275-290.

- Nepstad, D.C., Carvalho, C., Davidson, E., Jipp, P.H., Lefebvre, P., Negreiros, G.H., da Silva, E.D., Stone, T.A., Trumbore, S.E., & Vieira, S.A. (1994) The role of deep roots in the hydrological and carbon cycles of Amazonian forests and pastures. *Nature*, 372, 666-669.
- Niinemets, Ü. (2001) Global-scale climatic controls of leaf dry mass per area density, and thickness in trees and shrubs. *Ecology*, 82, 453-469.
- O'Brien, J.J., Oberbauer, S.F., & Clark, D.B. (2004) Whole tree xylem sap flow responses to multiple environmental variables in a wet tropical forest. *Plant, Cell and Environment*, 27, 551-567.
- Oliveira, R.S., Dawson, T.E., Burgess, S.S.O. & Nepstad, D.C. (2005) Hydraulic distribution in three Amazonian trees. *Oecologia*, 145, 354-363.
- Poorter, L. (2009) Leaf traits show different relationships with shade tolerance in moist versus dry tropical forests. *New Phytologist*, 181, 890-900.
- Rada, F., García-Núñez, C., & Ataroff, M. (2009) Leaf Gas Exchange in Canopy Species of a Venezuelan Cloud Forest. *Biotropica*, 41, 659-664.
- Reich, P.B., Walters, M.B., & Ellsworth, D.S. (1992) Leaf life-span in relation to leaf, plant, and stand characteristics among diverse ecosystems. *Ecological Monographs*, 62(3), 365-392.
- Reich, P.B., Wright, I.J., Cavender-Bares, J., Craine, J.M., Oleksyn, J., Westoby, M., & Walters, M.B. (2003) The evolution of plant functional variation: traits, spectra and strategies. *International Journal of Plant Science*, 164, 143-164.

- Roberts, J., Cabral, O.M.R., & Aguiar, L.F.D. (1990) Stomatal and Boundary-Layer Conductances in an Amazonian terra Firme Rain Forest. *The Journal of Applied Ecology*, 27, 336-353.
- Roche, P., Díaz-Burlinson, N., & Gachet, S. (2004) Congruency analysis of species ranking on leaf traits: which traits are the more reliable? *Plant Ecology*, 174, 37-48.
- Rosado, B.H.P., Oliveira, R.S., & Aidar, M.P.M. (2010) Is leaf water repellency related to vapor pressure and crown exposure in tropical forests? *Acta Oecologica*, 36, 645-649.
- Santiago, L.S., Goldstein, G., Meinzer, F.C., Fownes, J.H., & Mueller-Dombois, D. (2000) Transpiration and forest structure in relation to soil waterlogging in a Hawaiian montane cloud forest. *Tree Physiology*, 20, 673-681
- Santiago, L.S., Kitajima, K., Wright, S.J., & Mulkey, S.S. (2004) Coordinated changes in photosynthesis, water relations and leaf nutritional traits of canopy trees along a precipitation gradient in lowland tropical forest. *Oecologia*, 139, 495-502.
- Scholz, F.G., Bucci, S.J., Goldstein, G., Frederick, Meinzer, C., Franco, A.C., & Miralles-Wilhelm, F. (2008) Temporal dynamics of stem expansion and contraction in savanna trees: withdrawal and recharge of stored water. *Tree Physiology*, 28, 469-480.
- Schoonmaker, A.L., Hacke, U.G., Landhäusser, S.M., Lieffers, V.J., & Tyree, M.T. (2010). Hydraulic acclimation to shading in boreal conifers of varying shade tolerance. *Plant, Cell & Environment*, 33, 382-393.

- Sellers, P.J., Berry, J.A., Collatz, G.J., Field, C.B., & Hall, F.G. (1992) Canopy reflectance, photosynthesis and transpiration. III. A reanalysis using improved leaf models and a new canopy integration scheme. *Remote Sens Environ*, 42, 187-296.
- Sellin, A. & Kupper, P. (2006) Spatial variation in sapwood area to leaf area ratio and specific leaf area within a crown of silver birch. *Trees*, 20, 311–319.
- Snyder, K.A., James, J.J., Richards, J.H., & Donovan, L.A. (2008) Does hydraulic lift or nighttime transpiration facilitate nitrogen acquisition? *Plant and Soil*, 306, 159-166.
- Sperry, J.S., Hacke, U.G., Oren, R., & Comstock, J.P. (2002) Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant Cell and Environment*, 25, 251-263.
- Velázquez-Rosas, N. Meave, J., & Vazquez-Santana, S. (2002) Elevational Variation of Leaf Traits in Montane Rain Forest Tree Species at La Chinantla, Southern Mexico. *Biotropica*, 34, 534-546.
- Westoby, M., Falser, D.S., Moles, A.T., Wesk, P.A., & Wright, I.J. (2002) Plant ecological strategies: some leading dimensions of variation between species. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 33, 125-159.
- Williams, K., Field, C.B., & Mooney, H.A. (1989) Relationships among leaf construction cost, leaf longevity, and light environment in rain-forest plants of the genus *Piper*. *American Naturalist*, 133, 198-211.
- Witkowski, E.T.F. & Lamont, B.B. (1991) Leaf specific mass confounds leaf density and thickness. *Oecologia*, 88, 486-493.
- Wright, I.J., Reich, P., Westoby, M., Ackerly, D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-Bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J.H.C., Diemer, M., Flexas, J., Garnier, E., Groom, P.H., Gulias, J., Hikosaka, K., Lamont, B., Lee, T., Lusk, C., Midgley, J.J.,

- Laure-Navas, M., Niinemets, Ü., Oleksyn, J., Osada, N., Poorter, H., Poot, P., Prior, L., Pyankov, V., Roumet, C., Thomas, S.C., Tjoelker, M.G., Veneklaas, E.J., & Villar, R. (2004) The world wide leaf economics spectrum. *Nature*, 428, 821-827.
- Wright, I.J., Falster, D.S., Pickup, M., & Westoby, M. (2006) Cross-species patterns in the coordination between leaf and stem traits and their implications for plant hydraulics. *Physiologia Plantarum*, 127, 445-456.
- Wright, I.J., Ackerly, D.D., Bongers, F., Harms, K.E., Ibarra-Manriquez, G., Martinez-Ramos, M., Mazer, S.J., Muller-Landau, H.C., Paz, H., Nigel C. A. Pitman , Poorter, L., Silman, M.R., Vriesendorp, C., Webb, C.O., Westoby, M., & Wright, S.J. (2007) Relationships Among Ecologically Important Dimensions of Plant Trait Variation in Seven Neotropical Forests. *Annals of Botany*, 99, 1003-1015.
- Xu, Y.L. & Cohen, S. (2005) Long-term hydraulic acclimation to soil texture and radiation load in cotton. *Plant Cell and Environment*, 28, 492-499.
- Zeppel, M.J.B., Murray, B.R., Barton, C., & Eamus, D. (2004) Seasonal responses of xylem sap velocity to VPD and solar radiation during drought in a stand of native trees in temperate Australia. *Functional Plant Biology*, 31, 461-470.
- Zotz, G., Tyree, M.T., Patiño, S. & Carlton, M.R. 1998. Hydraulic architecture and water use of selected species from a lower montane forest in Panama. *Trees* 12:302–309.

Conclusão e Considerações Finais

Os resultados apresentados nesta tese, além de caracterizarem as respostas individuais das espécies frente às variações em condições e recursos de acordo com altitude e grau de exposição da copa, trazem novas e importantes contribuições sobre o papel de cada um dos compartimentos, que fazem parte do contínuo solo-planta-atmosfera, na Floresta Tropical Atlântica. Apesar de poucas espécies terem sido avaliadas neste estudo, e de suas idiossincrasias em termos de atributos, me permito traçar as possíveis mudanças nas FODTB e FODM em decorrência do atual cenário de mudanças climáticas. Embora as florestas comparadas neste estudo não apresentem grande variação de altitude, em comparação com estudos realizados em florestas tropicais que chegam a cinco mil metros de altitude (Figura 1; Grubb, 1977; Bruijnzeel & Veneklaas, 1998; Leuschner, 2000, Santiago et al., 2000; Motzer et al. 2005), foi possível notar indicativos de que FODTB e FODM podem responder de maneira diferenciada às mudanças climáticas mesmo em uma menor variação altitudinal.

Na literatura, as predições sobre alterações da vegetação em função de mudanças climáticas têm focado em extremos altitudinais (de 0 a 5.000 m), onde a comparação recai sobre fitofisionomias muito distintas (Figura 1; Bruijnzeel & Veneklaas, 1998; Leuschner, 2000; Körner, 2007; Aryal e Neuner, 2010). Nestes casos, aumentos de temperatura do ar e concentração de CO₂ atmosférico levariam a uma expansão das florestas de terras baixas com a conseqüente redução da vegetação montana em função da extrapolação dos limites de tolerância fisiológicos das plantas nestes ambientes (Woodward, 1993; Gonzalez et al., 2010). No entanto, o presente trabalho aponta que mesmo apesar de uma diferença altitudinal de cerca de 900 metros entre florestas, foram

duas florestas diferem não apenas em termos de estrutura (Alves et al. 2010), mas também em termos funcionais no que tange as relações hídricas.

Ainda no contexto de mudanças climáticas, o fato da água também ser considerada como fator limitante mesmo em uma floresta tropical chuvosa, especialmente na FODM, traz à tona algumas reflexões acerca das previsões sobre respostas das plantas frente ao aumento na concentração de CO₂ atmosférico. Tais previsões indicam que uma maior concentração de CO₂ levaria a expansão das florestas em função de aumentos na biomassa vegetal causados por maiores taxas fotossintéticas (Woodward, 1993; Phillips et al., 1998; Körner, 2006; Stork et al. 2007). Embora maiores concentrações de CO₂ possam levar a maiores taxas fotossintéticas, há o efeito contrário de promoverem reduções na condutância estomática (Field & Jackson, 1995; Ainsworth & Rogers, 2007; Stork et al. 2007; Peñuelas et al., *no prelo*). Este antagonismo em função da maior disponibilidade de CO₂ pode ser explicado a partir do modelo de Cowan & Farquhar (1977) no qual a condutância estomática é produto de uma maximização da eficiência no uso da água em termos da assimilação de CO₂. Embora diminuições na condutância estomática tragam o benefício de aumentar a eficiência no uso da água em curto prazo (Peñuelas et al., *no prelo*), podem ocorrer aumentos no índice de área foliar das espécies como mecanismo compensatório (Field & Jackson, 1995), o que nos leva a um cenário alarmante quando avaliamos esta questão em níveis hierárquicos superiores.

Menores condutâncias estomáticas têm, como consequência direta, reduções na evapotranspiração dos ecossistemas (Dolman et al., 1991; Field & Jackson, 1995; Stork et al., 2007), fazendo com que, a longo prazo, a disponibilidade de água diminua devido a reduções na precipitação (Field & Jackson, 1995; Stork et al., 2007). Adicionalmente,

maiores índices de área foliar, implicando em maior superfície de demanda evaporativa (Meinzer, 2003; Field & Jackson, 1995; Gotsch et al. 2010), e aumento da temperatura, aumentando a foto-respiração e diminuindo a eficiência no uso da água (Nobel, 1999; Saxe et al., 2001), levam a um cenário de perda de espécies mais suscetíveis ao aumento de deficiência hídrica decorrente do aumento na concentração de CO₂ atmosférico (Field & Jackson, 1995; Saxe et al., 2001).

Baseado nos resultados de que a FODM já apresenta maiores sinais de deficiência hídrica e no cenário exposto acima, sugiro que os aumentos na concentração de CO₂ atmosférico levará a uma maior frequência, intensidade e duração dos eventos de seca será maior na FODM, levando a uma maior perda de espécies e conseqüente redução na magnitude de processos ecossistêmicos (Chapin et al., 2000). Considerando ainda, a maior radiação solar na FODM associada a menores condutâncias estomáticas, podem ocorrer danos severos ao aparato fotossintético das plantas devido ao excesso de energia radiante levando ao estresse luminoso (Walker, 1992; Demmig-Adams & Adams, 2006). Em termos de estrutura populacional, existem indicativos de que eventos de seca levariam à morte as árvores maiores primeiro devido a limitações hidráulicas (Ryan et al., 2006; Phillips et al., 2010). Porém, também devido a diferenças espécie-específicas, não há consenso se a mortalidade devido à seca seria tamanho-dependente, além do fato de que seus efeitos sobre a demografia podem durar cerca de dois anos (Phillips et al., 2010).

Independentemente do efeito da seca sobre a estrutura populacional das espécies, a resultante final da susceptibilidade de uma dada espécie à seca seria uma redução no padrão de distribuição espacial (Engelbrecht et al., 2005). Em estudo publicado

recentemente, Colombo e Joly (2010) avaliaram, através de modelagem, alterações nas distribuições de 38 espécies da Mata Atlântica em função de diferentes cenários de aumento de temperatura esperados para o ano de 2050. Dentre as espécies estudadas por Colombo & Joly (2010), estão *Hyeronima alchorneioides*, *Alchornea triplinervia* e *Mollinedia schottiana*. Nesta modelagem, *Mollinedia schottiana* apresenta uma das maiores reduções em sua atual distribuição (59,88%) no cenário pessimista de aumento de 1% de CO₂ e ≥ 4 °C de temperatura projetado pelo *Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas* (IPCC, 2007) (Colombo & Joly, 2010). Esta predição reforça os resultados desta tese que apontam *Mollinedia schottiana* como espécie mais suscetível à seca quando comparada a *Hyeronima alchorneioides* e *Alchornea triplinervia*. Isto reforça o fato de que a maior robustez destes modelos será alcançada a partir da inclusão de dados sobre ecologia funcional e interações com outras espécies.

Finalmente, os resultados desta tese trazem novas e importantes contribuições sobre o contínuo solo-planta-atmosfera, na Floresta Tropical Atlântica. As conclusões aqui apresentadas indicam a importância de ajustes associados ao uso da água e indicam que luz e nutrientes não podem ser considerados como os únicos importantes fatores abióticos que estruturam estes ambientes. Contudo, mesmo que as conclusões desta tese tragam importantes contribuições para o entendimento do funcionamento da Floresta Ombrófila Densa Atlântica, ainda não é fácil saber qual é a figura final do complexo quebra-cabeça que estamos montando. Se um dia saberemos, é difícil prever, mas o certo é que continuaremos a busca por este entendimento da mesma forma que, assim como Plínio *O Velho*, temos feito desde a antiguidade.

Referências

- Ainsworth, E. & Rogers, A. (2007) The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: mechanisms and environmental interactions. *Plant, Cell & Environment*, 30, 258-270.
- Alves, L.F., Vieira, S.A., Scaranello, M.A., Camargo, P.B., Santos, F.A.M., Joly, C.A., & Martinelli, L.A. (2010) Forest structure and live aboveground biomass variation along an elevational gradient of tropical Atlantic moist forest (Brazil). *Forest Ecology and Management*, 260, 679-691.
- Aryal, B. & Neuner, G. (2010) Leaf wettability decreases along an extreme altitudinal gradient. *Oecologia*, 162, 1-9.
- Bruijnzeel, L.A. & Veneklaas, E.J. (1998) Climatic Conditions And Tropical Montane Forest Productivity: The Fog Has Not Lifted Yet. *Ecology*, 79, 3-9.
- Chapin III, F.S., Zavaleta, E.S., Eviner, V.T., Naylor, R.L., Vitousek, P.M., Reynolds, H.L., Hooper, D.U., Lavoirel, S., Sala, O.E., Hobbie, S.E., Mack, M.C., & Díaz, S. (2000) Consequences of changing biodiversity. *Nature*, 405, 234-242.
- Colombo, A. & Joly, C. (2010) Brazilian Atlantic Forest lato sensu: the most ancient Brazilian forest, and a biodiversity hotspot, is highly threatened by climate change . *Brazilian Journal of Biology* , 70 , 697-708 .
- Cowan, I.R. & Farquhar, G.D. (1977) Stomatal function in relation to leaf metabolism and environment. *Symp. Soc. Exp. Biol.*, 31, 471-505.
- Demmig-Adams, B. & Adams, W.W. (2006) Photoprotection in an ecological context: the remarkable complexity of thermal energy dissipation. *New Phytologist*, 172, 11-21.

- Dolman, A.J., Gash, J.H.C., Roberts, J., & Shuttleworth, W.J. (1991) Stomatal and surface conductance of tropical rainforest. *Agricultural and Forest Meteorology*, 54, 303-318.
- Engelbrecht, B., Kursar, T., & Tyree, M. (2005) Drought effects on seedling survival in a tropical moist forest. *Trees*, 19, 312-321.
- Field, D.C., Jackson, R.B., & Mooney, H.A. (1995) Stomatal responses to increased CO₂: implications from the plant to the global scale. *Plant, Cell & Environment*, 18, 1214-1225.
- Gonzalez, P., Neilson, R.P., Lenihan, J.M., & Drapek, R.J. (2010) Global patterns in the vulnerability of ecosystems to vegetation shifts due to climate change. *Global Ecology and Biogeography*, 19, 755-768.
- Gotsch, S., Geiger, E., Franco, A., Goldstein, G., Meinzer, F., & Hoffmann, W. (2010) Allocation to leaf area and sapwood area affects water relations of co-occurring savanna and forest trees. *Oecologia*, 163, 291-301.
- Grubb, P.J. (1977) Control of forest growth and distribution on wet tropical mountains: with Special Reference to Mineral Nutrition. *Ann. Rev. Ecol. Syst.*, 8, 83-107.
- IPCC (2007). International Panel on Climate Change. *Climate change 2007: Mitigation - Contribution of Working group III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press., Cambridge.
- Körner, C. (2006) Plant CO₂ responses: an issue of definition, time and resource supply. *New Phytologist*, 172, 393-411.

- Körner, C. (2007) The use of 'altitude' in ecological research. *Trends in Ecology and Evolution*, 22, 569-574.
- Leuschner, C. (2000) Are High Elevations In Tropical Mountains Arid Environments For Plants? *Ecology*, 81, 1425-1436.
- Meinzer, F. (2003) Functional Convergence in plant responses to the environment. *Oecologia*, 134, 1-11.
- Motzer, T., Munz, N., Küppers, M., Schmitt, D., & Anhuf, D. (2005) Stomatal conductance, transpiration and sap flow of tropical montane rain forest trees in the southern Ecuadorian Andes. *Tree Physiology*, 25, 1283–1293.
- Nobel, P. (1999) *Physiochemical & Environmental Plant Physiology*, 2 edn. Academic Press, San Diego, California.
- Peñuelas, J., Canadell, J.G., & Ogaya, R. Increased water-use efficiency during the 20th century did not translate into enhanced tree growth. *Global Ecology and Biogeography*. *no prelo*.
- Phillips O. L., Malhi Y., Higuchi N. et al. (1998) Changes in the carbon balance of tropical forest: evidence from long-term plots. *Science* 282, 439–42.
- Phillips, O.L., van der Heijden, G., Lewis, S.L., López-González, G., Aragão, L.E.O.C., Lloyd, J., Malhi, Y., Monteagudo, A., Almeida, S., Dávila, E.A., Amaral, I., Andelman, S., Andrade, A., Arroyo, L., Aymard, G., Baker, T.R., Blanc, L., Bonal, D., de Oliveira, Á.C.A., Chao, K.-J., Cardozo, N.D., da Costa, L., Feldpausch, T.R., Fisher, J.B., Fyllas, N.M., Freitas, M.A., Galbraith, D., Gloor, E., Higuchi, N., Honorio, E., Jiménez, E., Keeling, H., Killeen, T.J., Lovett, J.C., Meir, P., Mendoza, C., Morel, A., Vargas, P.N., Patiño, S., Peh, K.S.-H., Cruz, A.P., Prieto,

- A., Quesada, C.A., Ramírez, F., Ramírez, H., Rudas, A., Salamá, R., Schwarz, M., Silva, J., Silveira, M., Ferry Slik, J.W., Sonké, B., Thomas, A.S., Stropp, J., Taplin, J.R.D., Vásquez, R., & Vilanova, E. (2010) Drought mortality relationships for tropical forests. *New Phytologist*, 187, 631-646.
- Ryan, M.G., Phillips, N., & Bond, B.J. (2006) The hydraulic limitation hypothesis revisited. *Plant, Cell & Environment*, 29, 367–381.
- Rosado, B.H.P., Oliveira, R.S., & Aida, M.P.M. (2010) Is leaf water repellency related to vapor pressure and crown exposure in tropical forests? *Acta Oecologica*, 36, 645-649.
- Santiago, L.S., Goldstein, G., Meinzer, F.C., Fownes, J.H., & Mueller-Dombois, D. (2000) Transpiration and forest structure in relation to soil waterlogging in a Hawaiian montane cloud forest. *Tree Physiology*, 20, 673-681.
- Saxe, H., Cannell, M.G.R., Johnsen, Ø., Ryan, M.G., & Vourlitis, G. (2001) Tree and forest functioning in response to global warming. *New Phytologist*, 149, 369-400.
- Stork, N.E., Balston, J., Farquhar, G.D., Franks, P.J., Holtum, J.A.M., & Liddell, M.J. (2007) Tropical rainforest canopies and climate change. *Austral Ecology*, 32, 105-112.
- Walker, D. (1992) Excited leaves. *New Phytologist*, 121, 325-345.
- Woodward, F.I. (1993) The lowland-to-upland transition - modelling plant responses to environmental change. *Ecological Applications*, 3, 404-408.