#### UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E MANEJO DE RECURSOS NATURAIS

### TRAÇOS HIDRÁULICOS DE *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* (Burseraceae) EM INDIVÍDUOS DE DIFERENTES TAMANHOS NO SUDOESTE DA AMAZÔNIA

MARTIN ACOSTA OLIVEIRA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

RIO BRANCO-AC, BRASIL JULHO DE 2019

#### UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E MANEJO DE RECURSOS NATURAIS

### TRAÇOS HIDRÁULICOS DE *Protium* (sect. *Tetragastris*) sp. nov. (Burseraceae) EM INDIVÍDUOS DE DIFERENTES TAMANHOS NO SUDOESTE DA AMAZÔNIA

#### MARTIN ACOSTA OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais da Universidade Federal do Acre como requisito parcial à obtenção do título de Mestre. Orientador: Prof. Dr. Marcos Silveira.

RIO BRANCO-AC, BRASIL JULHO DE 2019

#### UNIVERSIDADE FEDERAL DO ACRE PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E MANEJO DE RECURSOS NATURAIS

## TRAÇOS HIDRÁULICOS DE *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov*. (Burseraceae) EM INDIVÍDUOS DE DIFERENTES TAMANHOS NO SUDOESTE DA AMAZÔNIA

#### MARTIN ACOSTA OLIVEIRA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais da Universidade Federal do Acre como requisito parcial à obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 31 de julho de 2019 pela banca examinadora:

Dr. Marcos Silveira Universidade Federal do Acre, Centro de Ciências Biológicas e da Natureza Orientador

Dr. Henrique Augusto Mews Universidade Federal do Acre, Centro de Ciências Biológicas e da Natureza Examinador interno

witho du Geu kumanda

Dra. Fernanda Coelho de Souza Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, Programa de pós-graduação em Ecologia Examinador externo

> RIO BRANCO-AC, BRASIL JULHO DE 2019

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da UFAC

O482t Oliveira, Martin Acosta, 1976 -

Traços hidráulicos de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov*. (Burseraceae) em indivíduos de diferentes tamanhos no sudoeste da Amazônia / Martin Acosta Oliveira; orientador: Dr. Marcos Silveira. – 2019. 44 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Acre, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais, Rio Branco, 2019. Inclui referências bibliográficas, apêndices e anexos.

1.Cavitação. 2. Curva de vulnerabilidade. 3. Embolismo. I. Silveira, Marcos (orientador). II. Título.

CDD: 636.6

Bibliotecária: Irene de Lima Jorge CRB-11º/465

#### REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ACOSTA, M. (2019).

Traços hidráulicos de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov*. (Burseraceae) em indivíduos de diferentes tamanhos no sudoeste da Amazônia. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais. Programa de Pós-graduação em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais, Universidade Federal do Acre, Rio Branco-AC, 37 p.

CESSÃO DE DIREITOS AUTOR: Martin Acosta Oliveira TÍTULO: Traços hidráulicos de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov*. (Burseraceae) em indivíduos de diferentes tamanhos no sudoeste da Amazônia. GRAU: Mestre

Concedo à Universidade Federal do Acre-UFAC permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestá-las somente para propósitos acadêmicos e científicos. Reservo outros direitos de publicação, de forma que nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem minha autorização por escrito.

Brtin Acosta Oliveira

Martin Acosta Óliveira Endereço eletrônico: martin.acosta.bio@gmail.com

#### AGRADECIMENTOS

A gratidão é o reconhecimento das oportunidades que a vida nos oferece. Assim, é necessário perceber o que nos é dado e usar essa dádiva para nos impulsionar para um estágio de maior compreensão e discernimento da própria vida. Somente assim, daremos continuidade ao processo de desenvolvimento intelectual enquanto ser humano.

Agradeço aos meus pais Alonzo Acosta Firmo e Maria do Carmo Oliveira Firmo (*in memoriam*), que tiveram o cuidado de me educar e de me tornar o ser humano que sou hoje. Sou grato pelo amor doado incondicionalmente, e por todos os momentos em que vivemos juntos. Te amo pai, te amo mãe.

Gratidão à minha tia Graça, mulher guerreira e um grande exemplo de vida, e a minha amiga Tiana que sempre me estenderam a mão nos momentos difíceis dessa jornada acadêmica. Sou grato por vocês terem me apoiado e acreditado no meu sonho.

Agradeço à minha amada Ana Beatriz, pela companhia, carinho, apoio, atenção e paciência. O meu conforto é ter a certeza de sempre poder contar com o seu abraço acolhedor, pois você é o meu refúgio de descanso e paz. Sou imensamente grato por ter você na minha vida e poder compartilhar contigo a minha existência. Eu te amo.

Agradeço à minha sogra Maria Anunciada, pela força e positividade que sempre me impulsionou em direção ao meu objetivo e pelas deliciosas refeições que nos salvaram em campo, no período das coletas.

Sou grato à professora e amiga Ocidéia Mastrangelo, pelo financiamento feito na primeira campanha dessa pesquisa, pois sem esse auxílio tudo teria sido mais difícil.

Minha gratidão aos companheiros Daniel Silva, Adriano da Silva e Edilson Consuelo pela identificação das árvores, pois a ajuda de vocês foi fundamental para que esse trabalho se tornasse hoje uma realidade.

Sou grato pelo apoio e ajuda do meu filho Brendon Cristian, que me acompanhou em todas as etapas dessa pesquisa. Em especial nas madrugadas, quando precisávamos ter o cuidado e a atenção para realizarmos as coletas, e também na parte do laboratório, pelo zelo e esmero em todas as medidas. Muito obrigado meu amado filho, você sempre superou todas as minhas expectativas.

Agradeço ainda ao Joseph, Adrian e à Letícia Fernandes, João Rodrigues e Renata Teixeira pela ajuda fundamental em campo, sem o apoio de vocês essa missão seria mais árdua. À Professora Rosélia Lopes, gratidão por disponibilizar o microscópio para que eu pudesse realizar parte do meu estudo e à Williane Brito, o meu muito obrigado, por reservar o seu tempo para me ajudar no manuseio do microscópio em laboratório.

À minha "maninha" do meu coração, Ketlen Bona e aos grandes companheiros Wendeson Castro "WC", Luiz Henrique e Salatiel, eu agradeço imensamente pela ajuda nas análises estatísticas.

Agradeço também ao meu orientador Marcos Silveira, por ter aceitado esse desafio e por sua contribuição na realização deste sonho.

Agradeço ainda de forma muito especial ao David Galbraith, que nos forneceu os equipamentos e material necessário para as nossas atividades através do projeto TREMOR, bem como plantou a semente que agora estamos colhendo frutos.

Minha eterna gratidão à Júlia Tavares, pela coorientação, paciência e apoio na construção e realização deste sonho.

O meu muito obrigado à Caroline Sgnori que sempre esteve disposta a ajudar e foi muito importante na construção do projeto de pesquisa.

Agradeço também à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES/Brasil), Código de Financiamento 001, pelo auxílio em forma de bolsa de estudo, haja vista que sem ela, a realização dessa pesquisa seria muito mais difícil.

Aos professores Cleber Salimon, Elder Ferreira Morato e Sabina Cerruto Ribeiro, sou grato pelas orientações e correções do projeto. Minha gratidão também aos membros da minha banca de defesa nas figuras dos avaliadores Henrique Mews e Fernanda Coelho por estarem presentes em um momento tão importante da minha vida e a todos que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma para a realização deste sonho. Meu muito obrigado.

vi

### SUMÁRIO

1. Introdução
2. Material e Métodos
2.1 Área de estudo
2.2 Coleta de dados
2.3 Coleta de dados no período seco para construção da curva diurna do $\Psi_{f}$ , $\Psi_{mad}$ e CE
2.4 Coleta de dados do período chuvoso para construção da curva de vulnerabilidade
do xilema11
2.5 Método pneumático a vácuo12
2.6 Medições dos traços estomáticos e variáveis ambientais14
3. Resultados
4. Discussão
4.1 Comportamento de Protium (sect. Tetragastris) sp. nov. à cavitação Ψ50, Ψ88 23
4.2 Transpiração noturna
4.3 Características estomáticas e comportamento estomático26
5. Conclusão
6. Referências Bibliográficas
7. Apêndice

## Traços hidráulicos de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov*. (Burseraceae) em indivíduos de diferentes tamanhos no sudoeste da Amazônia\*

Martin Acosta Oliveira<sup>1,3</sup> e Marcos Silveira<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Manejo de Recursos Naturais, Universidade Federal do Acre, caixa postal 500, 69920-900, Rio Branco, AC, Brasil.

<sup>2</sup>Centro de Ciências Biológicas e da Natureza, Universidade Federal do Acre, caixa postal 500, 69920-900, Rio Branco, AC, Brasil.

<sup>3</sup>Autor para correspondência: martin.acosta.bio@gmail.com

\*Conforme normas do periódico New Phytologist (Apêndice 1)

#### Resumo

A frequência de secas severas está aumentando em muitas regiões do mundo, alterando a estrutura, produtividade e composição das florestas e aumentando a mortalidade arbórea. Uma das possíveis causas para explicar a redução da produtividade e mortalidade das plantas durante eventos de seca severa é a falha hidráulica do xilema. Estudos sugerem que árvores de grande porte, exibem maior sensibilidade à seca do que as árvores pequenas. Testamos a hipótese que o aumento do tamanho de Protium (sect. Tetragastris) sp. nov., estaria relacionado com maior vulnerabilidade a seca, aumentaria a densidade estomática e diminuiria o tamanho estomático. Construímos curvas de vulnerabilidade do xilema para verificar as variações hídricas e classificamos o comportamento estomático para a espécie. Nossos resultados não indicaram diferenças na vulnerabilidade do xilema, margens de segurança hidráulica, densidade e tamanho estomático com o aumento do tamanho da árvore. O comportamento estomático apresentou característica anisohídrica. Sugerimos que a menor profundidade das raízes dos indivíduos maiores, pode estar corroborando para que eles apresentem as mesmas respostas hidráulicas dos indivíduos menores com relação a resistência do xilema, ao embolismo e margens de segurança hidráulica. Apenas com mais estudos na planta inteira, incluindo as raízes, poderemos entender os fatores que levam Protium (sect. Tetragastris) sp. nov. à essa homogeneidade hidráulica entre indivíduos pequenos e grandes.

Palavras-chave: Cavitação, Curva de vulnerabilidade, Embolismo, Estômatos.

## Hydraulic traces of *Protium (sect. Tetragastris) sp. nov.* (Burseraceae) in individuals of different sizes in southwestern Amazonia\*

#### Abstract

The frequency of severe droughts is increasing in many regions of the world, changing the structure, productivity and composition of forests and increasing tree mortality. One of the possible causes to explain the reduction in plant productivity and mortality during severe drought events is xylem hydraulic failure. Studies suggest that large trees exhibit greater drought sensitivity than small trees. We tested the hypothesis that increasing size of *Protium* (*sect. Tetragastris*) *sp. nov.* would be related to greater vulnerability to drought, increase stomatal density and decrease stomatal size. We built xylem vulnerability curves to verify water variations and classified the stomatal behavior for the species. Our results did not indicate differences in xylem vulnerability, hydraulic safety margins, stomatal density and size with increasing tree size. The stomatal behavior presented anisohydric characteristic. We suggest that the lower depth of the roots of the larger individuals may be corroborating that they present the same hydraulic responses of the smaller individuals regarding xylem resistance, embolism and hydraulic safety margins. Only with further studies on the entire plant, including the roots, we can understand the factors that lead *Protium (sect. Tetragastris) sp. nov.* to this hydraulic homogeneity between small and large individuals.

Keywords: Cavitation, Vulnerability curve, Embolism, Stomata.

#### 1. Introdução

As secas severas pontuais que atingiram a Amazônia em várias ocasiões nos últimos 100 anos (Sombroek, 2001) estão intimamente relacionadas às variações da Temperatura da Superfície do Mar (TSM), tanto do Oceano Pacífico Tropical, quanto no Oceano Atlântico, e também pelo El Niño-Oscilação Sul (ENOS) e pela Oscilação Multidecadal do Atlântico (OMA) (Fu *et al.*, 2001, Malhi *et al.*, 2008, Marengo *et al.*, 2008, 2011, Zeng *et al.*, 2008). As secas ocorridas em 2005 e 2010, impulsionadas pela OMA e centradas na Amazônia ocidental, estão entre as mais severas do século XXI e causaram impacto negativo na estrutura da floresta e maior ocorrência de incêndios florestais (Alencar *et al.*, 2006; Aragão *et al.*, 2008, 2018). O evento El Niño de 2015-2016, reconhecido como um dos mais fortes já registrados (Klein, 2015), estendeu-se pela Amazônia oriental e ocidental (Jiménez-Muñoz *et al.*, 2016; Yang *et al.*, 2018). Estes eventos de seca extrema afetam diretamente a capacidade fotossintética das árvores e todos os processos dependentes de energia (Brodribb *et al.*, 2005; Brodribb & Holbrook, 2007), reduzem a produtividade, aumentam a mortalidade arbórea (Williamson *et al.*, 2000; Laurance & Williamson, 2001; Phillips *et al.*, 2009) e, a longo prazo, alteram a composição florestal (Engelbrecht *et al.*, 2007).

Uma das possíveis causas da redução da produtividade e do aumento da mortalidade das plantas durante eventos de seca severa é a falha hidráulica do xilema (McDowell *et al.*, 2008; Brodribb & Cochard, 2009). O tecido xilemático é composto de vasos e traqueídes, através dos quais ocorre o movimento de colunas de água contínuas entre o solo e as folhas, causada pela evaporação da água nas folhas, que age para puxar as colunas de água, graças às propriedade de adesão e coesão entre as moléculas da água líquida (Cochard *et al.*, 2013). Durante um evento de seca, o potencial hídrico do solo diminui, o gradiente de pressão no xilema aumenta e os vasos condutores tornam-se mais propensos à cavitação e à perda da condutância hidráulica (Brodribb *et al.*, 2003). A cavitação é o processo de formação de bolhas de ar no interior do xilema, quando a água muda da fase líquida para vapor (Pockman *et al.*, 1995). Como consequência da cavitação, ocorre o bloqueio do fluxo de água e de seiva bruta pela presença de uma bolha de ar no lúmen do vaso, denominada embolia (Cochard *et al.*, 2013). Portanto, diante da previsão de intensificação dos períodos de seca e do aumento de temperatura nos próximos anos, o estresse hídrico nas florestas amazônicas provavelmente também se intensificará (Duffy *et al.*, 2015).

A capacidade das plantas lenhosas de sobreviver e se recuperar de períodos prolongados de seca está fortemente relacionada à sua resistência à embolia (Brodribb & Cochard, 2009; Kursar *et al.*, 2009), propriedade que varia muito entre as espécies e é

amplamente determinada por diferenças na estrutura do xilema (Sperry *et al.*, 2006; Delzon *et al.*, 2010). Em períodos de seca há um forte *trade-off* entre crescimento da planta, consumo de água e propriedades hidráulicas do xilema (Zhang & Cao, 2009; Smith & Sperry, 2014; Rowland *et al.*, 2015). Durante o crescimento de uma árvore, as estratégias de transporte de água, nutrientes e carboidratos também se modificam (Day & Greenwood, 2011), e por isso, a altura e diâmetro devem ser considerados nos estudos sobre ecofisiologia (Niels & Selaya, 2011). Árvores mais altas, por exemplo, podem ser submetidas a maior estresse e potenciais hídricos mais negativos do que as árvores menores, devido a uma maior extensão do caminho hidráulico (Tyree & Sperry, 1988; Sperry *et al.*, 2002).

Os potenciais hídricos registrados quando o xilema perde 50% e 88% da condutividade, respectivamente ( $\Psi$ 50 e  $\Psi$ 88; megapascal -MPa), são métricas utilizadas como índices de resistências à embolia, e podem ser demostrados pela curva de vulnerabilidade do xilema (Tyree & Sperry, 1989; Hacke & Sperry, 2001; Choat *et al.*, 2012). A curva de vulnerabilidade expressa a relação do potencial hídrico nos vasos do xilema ( $\Psi$ x; MPa) com o percentual da perda de condutividade hidráulica do xilema (PPC; %) devido às oclusões por embolia de gás. A quantificação do grau de embolia por medidas hidráulicas é a abordagem que estima diretamente o grau de embolia com a PPC, mais comumente usada (Crombie 1983, Tyree & Dixon 1986, Sperry *et al.*, 1988).

As métricas hidráulicas juntamente com a margem de segurança hidráulica do xilema (MSH; MPa), determina a faixa de potenciais hídricos sob os quais as plantas podem transportar água com segurança sem o risco de falha hidráulica via embolia (Hacke et al., 2007; Choat et al., 2012; Bittencourt et al., 2016; Pereira et al., 2017). Quando a pressão do xilema ( $\Psi_x$ ; MPa, medido como potencial hídrico abaixo de zero) fica mais negativa e o xilema perde mais de 50% da sua condutividade, superando o  $\Psi_{50}$ , a função de transporte de água do xilema é severamente prejudicada e a planta estará exposta a um risco considerável de embolia acelerada e redução na produtividade e, a longo prazo, poderão ocorrer danos irreversíveis aos tecidos xilemáticos e, consequentemente, a morte da planta (Brodribb & Cochard, 2009). Choat et al. (2012) relataram que a maioria das árvores opera com MSH relativamente estreita (<1; MPa), muito perto do limiar de cavitação, deixando-as potencialmente vulneráveis à mortalidade induzida pela seca (Engelbrecht, 2012). Esta margem de segurança quantifica o grau de conservadorismo na estratégia hidráulica de uma planta, indicando que plantas com margens de segurança baixas, ou mesmo negativas, experimentam mais embolia e, portanto, risco potencial de falha hidráulica (Choat et al., 2012).

Estudos sobre as respostas fisiológicas das árvores sob condições de seca experimental em campo e de secas naturais, demonstraram aumento da mortalidade no curto prazo (1–3 anos), com vulnerabilidade notavelmente maior para alguns táxons e para árvores maiores (Nepstad et al., 2007; Phillips et al., 2009; da Costa et al., 2010). Bennett et al. (2015) sintetizaram dados de crescimento e mortalidade de árvores coletados durante 40 eventos de seca, em florestas em todo o mundo, para verificar a sensibilidade do tamanho da árvore à seca, e verificaram que durante os eventos as secas têm um impacto mais prejudicial sobre as taxas de crescimento e na mortalidade de árvores maiores. Rowland et al. (2015) identificaram intragenericamente, através de curvas de vulnerabilidade do xilema, que plantas menores são mais resistentes à embolia quando atingem potenciais hídricos 450 e Ψ88 mais negativos, enquanto indivíduos maiores são mais vulneráveis ao alcançarem Ψ50 e Ψ88 menos negativos, indicando que a alta taxa de mortalidade verificada para as árvores com grandes diâmetros pode ser atribuída aos processos hidráulicos, que são fatores determinantes para a mortalidade induzida pela seca. Desse modo, a resistência à embolia e à capacidade de transporte de água provavelmente determina a distribuição global das espécies arbóreas (Kursar et al., 2009; Poorter et al., 2010; Blackman et al., 2012, 2014; Gleason et al., 2012). Portanto, representa características criticamente importantes para a definição dos limites da tolerância de espécies lenhosas à seca e para a previsão de mudanças na estrutura, produtividade e mortalidade de árvores, induzidas pela seca (Choat et al., 2012).

A alta diversidade de estratégias funcionais e microambientes podem promover uma variedade comportamental distinta entre árvores de dossel e inferiores, que poderiam influenciar significativamente a sua resposta fisiológica mediante um alto grau de estresse hídrico, por exemplo, a parte superior do dossel de uma floresta a luminosidade tende a ser mais consistente, enquanto na parte inferior do dossel ela é altamente variável, abrangendo o sub-bosque e clareiras, de modo que as árvores de sub-dossel possuem um espectro funcional amplo, desde a necessidade de luz direta até a tolerância à sombra (Chazdon & Fetcher, 1984; Smith *et al.*, 1992; Wright *et al.*, 2010). Desse modo, árvores do dossel possuem copas expostas e experimentam uma maior demanda evaporativa ocasionada por maior radiação solar (Roberts *et al.*, 1990; Nepstad *et al.*, 2007; McDowell & Allen 2015). Em contraste com as grandes árvores, as árvores do sub-bosque enfrentam condições mais favoráveis, durante a seca. Em florestas com dossel fechado, o ambiente do sub-bosque apresenta temperaturas no ambiente mais baixa, déficits específicos de umidade, temperatura e velocidades do vento (Roberts *et al.*, 1990), colocando indivíduos do sub-bosque em vantagem relativa durante a seca. Portanto, a sensibilidade à seca mais pronunciada em

árvores maiores pode também ser atribuído por uma maior vulnerabilidade ao stresse hídrico (Ryan *et al.*, 206; Zhang *et al.*, 2009; McDowell *et al.*, 2011; McDowell & Allen 2015).

Embora existam vários mecanismos pelos quais as plantas regulam o transporte de água para evitar falhas hidráulicas, incluindo ajustes estruturais e fisiológicos (Maseda & Fernandez, 2006), mas em curto prazo, o fechamento estomático é o principal (Buckley, 2005; Martínez-Vilalta & Garcia-Forner, 2017). Mudanças nas condições ambientais, por exemplo, aumento da temperatura, elevam o déficit de pressão de vapor (DPV; kilopascal - KPa) e influenciam diretamente a resposta estomática em várias espécies vegetais (Trenberth *et al.*, 2014). Sob condições de seca as plantas limitam as perdas de vapor d´água pela transpiração, através do fechamento estomático e mantêm potenciais de água dentro dos limites toleráveis, evitando a desidratação foliar devido à transpiração excessiva, principalmente em árvores altas que podem apresentar uma menor condutância hidráulica (Hubbard *et al.*, 2001).

A redução do volume de água perdida pelas plantas também é influenciada pelas mudanças observadas no tamanho e distribuição dos estômatos, podendo variar entre as folhas, plantas e indivíduos de uma única espécie. O tamanho e distribuição dos estômatos podem mudar consideravelmente à medida em que as árvores crescem, e são influenciados por fatores ambientais, como a luminosidade, umidade do solo e do ar, DPV e concentração atmosférica de CO<sub>2</sub> (Zhang et al., 1987; Yoder et al., 1994; Woodward & Kelly, 1995; Jones, 1998; Gutschick, 1999; Oren et al., 1999; Lake et al., 2001; Al Afas et al., 2006; Shimazaki et al., 2007; Eller et al., 2015). A contagem e a medição dos estômatos são procedimentos importantes em todos os campos da biologia vegetal (Willmer & Fricker, 1996; Lawson et al., 1998). A densidade estomática (DE; milímetro quadrado - mm<sup>2</sup>) e tamanho estomático -(TE; micrômetro - µm), são indicadores de aclimatação e adaptação a ambientes contrastantes e permitem estimar a condutância estomática máxima, que é a máxima abertura dos poros estomáticos determinando a condutância difusiva máxima para CO2 e vapor de água (Brown & Escombe, 1900; Lawson et al., 1998; Franks & Beerling, 2009; Franks et al., 2009). A variação nas respostas estomáticas às condições ambientais pode ser explicada pelo estado hídrico da planta, comportamento estomático (CE; iso/anisohídrico) e características hidráulicas, além de diferentes controles genéticos (Jones, 1998; Caird et al., 2007; McDowell et al., 2008; Christman et al., 2009; Klein, 2014; Martínez-Vilalta et al., 2014).

Teoricamente, as espécies isohídricas fecham estômatos mais cedo durante a seca, portanto, dependerão mais fortemente das reservas de carboidratos para satisfazer as demandas contínuas de carbono para respiração, osmorregulação ou defesa. Como resultado, elas estariam mais propensas a morrer por "fome de carbono". Por outro lado, as espécies anisohídricas – aquelas que fecham os estômatos mais tarde, à custa de sofrer potenciais de água mais baixos, resultando em um potencial hídrico foliar (Ψf; MPa) mais negativo – estariam mais vulneráveis à falhas hidráulicas e seriam mais resistentes à cavitação (Jones, 1998; McDowell et al., 2008; Martínez-Vilalta et al., 2014). O \u03c4 f \u00e9 largamente determinado pelo potencial hídrico do ar circundante ( $\Psi_a$ ; KPa), mais comumente medido como DPV e potencial hídrico da rizosfera (Ψr; MPa), que é frequentemente estimado a partir do potencial hídrico das folhas antes do amanhecer (Ymad; MPa), (Bonal & Guehl, 2011). No entanto, a classificação iso/anisohídrica foi recentemente criticada pelo fato de que sua definição ser frequentemente dependente do contexto e pode ser ambígua (Martínez-Vilalta & Garcia-Forner, 2017). Apesar da ambiguidade que possa existir entre a classificação iso/anisohídrica é comum esperar que exista alguma coordenação entre o comportamento estomático e a hidráulica do xilema, evitando os perigos associados a altos níveis de cavitação, o que pode levar à falhas irreversíveis no sistema hidráulico da planta e, consequentemente, à mortalidade das árvores (McDowell et al., 2008; Kursar et al., 2009; Urli et al., 2013; Sevanto *et al.*, 2014).

Existem poucos estudos ecofisiológicos da flora arbórea na Amazônia ocidental brasileira, especialmente com relação à suscetibilidade ao estresse ocasionado pelo déficit hídrico e as respostas fisiológicas a ele. Previsões sobre como as florestas responderão às mudanças climáticas futuras dependem de uma compreensão dos mecanismos fisiológicos que regem o estresse hídrico no nível da espécie. Um dos caminhos mais promissores para caracterizar a sensibilidade das plantas ao estresse hídrico é quantificar a força da conexão líquida entre o solo e as folhas através do tecido do xilema que transporta a água. A resistência ao embolismo, portanto, representa uma característica criticamente importante para definir os limites da tolerância à seca entre espécies lenhosas e prever o declínio florestal induzido pela seca em escalas regionais e globais (Choat *et al.*, 2012; Anderegg *et al.*, 2016; Adam *et al.* 2017).

Neste estudo, investigamos as propriedades hidráulicas de 15 indivíduos de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* e o efeito do porte deles à susceptibilidade e resistência à cavitação. Especificamente, testamos as seguintes hipóteses i) As árvores maiores serão menos resistentes à cavitação, apresentando  $\Psi_{50}$  e  $\Psi_{88}$  menos negativos, e apresentarão

valores menores de MSH em relação às árvores pequenas; ii) As características estomáticas – densidade e tamanho – variarão intraespecificamente em relação às classes de diâmetro, com indivíduos maiores, apresentando TE maiores e DE menores em relação aos indivíduos menores; iii) Com base no Ψf, o comportamento estomático variará de acordo com o DPV, desse modo, se o Ψf acompanhar a variação do DPV, isso indicará um CE anisohídrico, caso isso não ocorra, será considerado um CE isohídrico. *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* foi definida como alvo deste estudo, por se tratar de uma árvore com ampla distribuição geográfica, ocorrendo na Amazônia ocidental brasileira nos Estados do Acre, Rondônia e Mato Grosso. Informação não publicada (Daly, 2019, manuscrito em revisão).

#### 2. Material e Métodos

#### 2.1 Área de estudo

Este estudo foi realizado na Fazenda Experimental Catuaba (FEC; 10°04' S e 67°37' O), município de Senador Guiomard, região leste do Estado do Acre, sudoeste da Amazônia brasileira. A FEC é um fragmento florestal de 1.200 ha pertencente à Universidade Federal do Acre, localizada em topografia ligeiramente ondulada, com predomínio de Latossolo e Argissolo (Acre, 2006), e com cobertura florestal formada por manchas de florestas dominadas pelo bambu *Guadua weberbaueri* dispersas em uma matriz de Floresta Ombrófila Densa (Silveira, 2005; Castro *et al.*, 2013). O período chuvoso ocorre de outubro a abril; maio é o mês de transição entre o período chuvoso e o seco; esse último estende-se de junho a agosto, e setembro é o mês de transição entre 1990 e 2000 mm, chegando 850 mm no pico do período chuvoso de janeiro a março, e 155 mm no período mais seco do ano, nos meses de julho a setembro (Duarte, 2006). A temperatura média anual da região é de 23°C, podendo variar entre 17°C e 34°C, respectivamente nos períodos mais frios (junho a agosto) e mais quentes - setembro a novembro (Duarte, 2006).

#### 2.2 Coleta de dados

Em uma parcela permanente instalada na área (10°04'33.89" S e 67°37'11.52" O) pelo Programa Large-Scale Biosphere-Atmosphere Experiment in Amazonia, amostramos 15 indivíduos de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* em cinco classes de diâmetro, medidos com fita diamétrica, em centímetros (cm), na altura do peito (DAP à 1,30 m), incluindo três réplicas para cada classe. Também classificamos os indivíduos por classes de altura para testarmos se os resultados seriam consistentes com os resultados das classes de

diâmetro. Desse modo, temos: Classe 1: 8-15 m, Classe 2: 16-23 m, Classe 3: 24-29 m. (Fig. 1).

Calculamos os intervalos de classes (IC) de diâmetro de acordo com a fórmula proposta por Spiegel (1976, Eq. 1), que minimiza o número de classes vazias:

$$IC = A / NC$$
[1]

 $NC = 1 + 3,3 \log(n)$ 

de forma que: A = amplitude (valor máximo – valor mínimo), NC = número de classes, n = número de indivíduos e IC = intervalo de classes.



**Fig. 1** Distribuição das classes de diâmetro (cm) e altura (m) para os quinze indivíduos de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* selecionados na Fazenda Experimental Catuaba, Senador Guiomard, Acre.

Escalamos todos os indivíduos mediante técnicas de rapel e deles coletamos galhos com folhas do topo da copa. Dos indivíduos posicionados no dossel, da classe cinco, coletamos duas amostras: uma dos galhos com folhas do topo da copa e a outra dos galhos com folhas encobertas e sombreadas do primeiro terço da copa inferior. Por meio desse procedimento, buscamos reduzir o efeito do sombreamento sobre a amostragem, permitindo uma comparação com os outros indivíduos selecionados das classes inferiores posicionadas sob menor incidência de luminosidade. Nos casos que não houve diferenças hídricas entre os galhos expostos e sombreados, utilizaremos sempre o galho mais alto para as análises.

#### 2.3 Coleta de dados no período seco para construção da curva diurna do $\Psi_f$ , $\Psi_{mad}$ e CE

Medimos o potencial hídrico das árvores através da câmara de pressão de Scholander (PMS Instrument Company, Albany, OR, EUA; Fig. 2), um dispositivo que aplica pressão a uma folha, a partir do pecíolo ou peciólulo. A quantidade de pressão necessária para que a água seja evidenciada na superfície cortada do pecíolo indica a quantidade de tensão que a folha está experimentando no seu abastecimento de água. Um valor alto de pressão negativa significa um valor alto de tensão e um alto grau de estresse hídrico.



**Fig. 2** Câmara de pressão de Scholander (Model 1505D, PMS Instrument Company) utilizada para aferir o potencial hídrico das plantas (Extraído de: Operating Instructions Model 1505D Pressure Chamber Instrument).

Estabelecemos a curva diurna para o período seco através de mensurações diárias do  $\Psi$ f durante todo o experimento, o que permitiu identificarmos o pico de estresse hídrico da espécie. Este pico foi representado na curva de vulnerabilidade do xilema, como potencial hídrico mínimo ( $\Psi$ min) verificado em campo. Iniciamos as coletas no período da madrugada o que viabilizou a coleta do potencial hídrico da madrugada ( $\Psi$ mad), variável que representa o potencial hídrico da rizosfera ( $\Psi$ r). Desse modo, as coletas obedeceram aos seguintes horários: 3:30h/ 5:30h; 7:00h/ 9:00h; 11:00h/ 13:00h; 14:00h/ 16:00h. De cada indivíduo, extraímos um galho de aproximadamente 30 cm de comprimento, e de cada um desses galhos retiramos três folhas no nível da inserção do pecíolo, as quais foram inseridas dentro de um saco plástico com fecho zip, previamente saturado com ar através de um sopro; tal

procedimento determinou o fim da transpiração e a interrupção do processo de desidratação da folha. Ao final do procedimento, levamos os sacos até a câmara de pressão de Scholander para a aferição do  $\Psi$ f. Além de revelar a variação hídrica diária das plantas em campo, a curva diurna também possibilitou a observação do CE através da regulação estomática dos indivíduos. A regulação estomática mais aberta (anisohídrico), ocorre quando o fechamento estomático é mais tardio, apesar dos valores mais negativos de  $\Psi$ f. Por outro lado, em um comportamento estomático mais fechado (isohídrico), ocorre uma resposta mais rápida do fechamento dos estômatos, no sentido de se evitar uma eventual falha hidráulica, devido um  $\Psi$ f mais negativo, sendo influenciado também pelo aumento ou diminuição do DPV.

# 2.4 Coleta de dados do período chuvoso para construção da curva de vulnerabilidade do xilema

Para construímos a curva de vulnerabilidade do xilema no período chuvoso, obedecemos aos mesmos critérios de seleção da integridade dos galhos e folhas estabelecidos no período seco. Durante a campanha de campo do período chuvoso, não realizamos aferições no decorrer do dia, pois todo ambiente encontrava-se em homogeneidade hídrica, em função da saturação de água no solo, sendo realizada apenas uma coleta no período da madrugada. Desse modo, após termos coletado o galho, envolvemos o local do corte com um tecido de algodão embebido em água para evitar a desidratação da amostra, imediatamente guardamos os galhos dentro de um saco de lona, lacramos e transportamos até o laboratório, onde ocorreram as medições.

No laboratório, realizamos dois procedimentos em conjunto: o método pneumático a vácuo, que nos forneceu a porcentagem de ar liberado do galho (PAL; %), e a aferição do  $\Psi_x$  com a câmara de pressão, que nos mostrou os níveis de pressão no xilema. Após isso, para equilibrar o potencial hídrico do xilema do caule com o potencial hídrico da folha, acondicionamos o galho no interior de um saco plástico preto por uma hora. Esse método de equilíbrio do potencial hídrico é comumente utilizado no cálculo da MSH, pois impede que a superestimação da embolia causada pelo potencial hídrico de folhas transpirantes seja mais negativa que o potencial hídrico do xilema do galho (Choat *et al.*, 2012). Repetimos essa operação até a total dessecação do galho e então, construímos o perfil da curva da vulnerabilidade do xilema.

Acompanhamos a desidratação total do galho em laboratório até o final da curva de vulnerabilidade do xilema, período em que a amostra experimentou potenciais hídricos muito negativos, embolia generalizada dos vasos e perda acentuada de condutância

hidráulica do xilema (Sperry *et al.*, 1988). Dessa forma, quando a curva atingiu  $\Psi_{50} e \Psi_{88}$ , respectivamente, 50% e 88% dos vasos do xilema estavam embolizados em resposta aos potenciais hídricos mais negativos. A curva de vulnerabilidade do xilema expressou a relação do  $\Psi_x$  com o percentual da perda de condutividade hidráulica do xilema PPC, devido às oclusões por embolia de gás e demonstrou as margens de segurança hidráulica para as cinco classes de diâmetro.

A margem de segurança é uma métrica que representa a vulnerabilidade à embolia e possui considerável significância ecológica, pois indica como as plantas estão susceptíveis à mortalidade induzida pela seca. Ela pode ser estimada como a diferença entre o menor potencial de água observado sob condições de estresse hídrico no campo ( $\Psi$ min), geralmente coletado no período do verão ao meio dia, e o nível de estresse hídrico que leva à falha hidráulica (MSH50 =  $\Psi$ min -  $\Psi$ 50) ou (MSH88 =  $\Psi$ min -  $\Psi$ 88), independentemente das espécies florestais e do bioma considerado (Meinzer *et al.*, 2009; Choat *et al* ., 2012; Anderegg *et al.*, 2012, 2016). Portanto, essa métrica oferece uma visão da proximidade *in natura* à taxa crítica de 50% e 88% de embolismo.

#### 2.5 Método pneumático a vácuo

Alguns métodos para estimar a resistência à embolia do xilema geralmente dependem de metodologias hidráulicas, no entanto nós utilizamos o método pneumático a vácuo baseado nas medições de fluxo de ar nas extremidades de ramos seccionados para construirmos curvas de vulnerabilidade do xilema, vinculando a quantidade de ar extraído de um ramo com o grau de embolia experimentado pelo xilema em determinado momento. O método pneumático (Fig. 3) está baseado no princípio de que o volume de ar contido dentro dos vasos xilemáticos pode ser utilizado como um indicador do grau de embolismo do xilema. Portanto, ao invés de determinar a porcentagem de perda de condutividade – como no método hidráulico – o método pneumático são tão eficientes quanto as curvas baseadas nos métodos hidráulicos para a maioria das espécies de angiospermas (Pereira et al., 2016; Bittencourt *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018). Porém, o método pneumático fornece vantagens consideráveis sobre outros métodos, pois, é indireto e pouco destrutivo para inferir a resistência ao embolismo. Além disso, ele é mais simples e rápido, pois exige uma menor manipulação de material vegetal e menor custo.



Reservatório de vácuo

**Fig. 3** Representação esquemática do aparato para medir o ar dentro do galho. O galho foi conectado a uma mangueira de silicone (1) presa com braçadeiras de plástico. Adaptadores conectaram o galho a uma mangueira de PVC (2) e depois a uma válvula de três vias (3). Um transdutor medidor de vácuo foi conectado à válvula de três vias, e o sinal de saída foi detectado com um medidor de voltagem. O vácuo foi criado com uma seringa conectada a mangueira de PVC e ao reservatório de vácuo. O armazenamento do vácuo foi em um Kitassato de 2 litros (Pereira et al., 2016).

Mensuramos as mudanças de pressão no xilema através de um medidor de vácuo conectado ao galho por meio de mangueiras e braçadeiras. Utilizamos uma seringa convencional de 50 mililitros (ml) sem agulha como fonte de vácuo, filme plástico e cola à base de látex para melhorar o encaixe e evitar vazamentos através das conexões de derivação e galho. Monitoramos o vácuo por um multímetro digital e um transdutor medidor de vácuo com uma precisão de (0,01 kilopascal - kPa), sendo a pressão inicial (Pi) medida quando a válvula de três vias do reservatório de vácuo foi aberta para a extremidade do galho conectado. Após a extração do ar do galho para o transdutor medidor de vácuo por dois minutos e meio, medimos a pressão final (Pf) com auxílio do multímetro, conforme Pereira *et al.* (2016).

De acordo com a lei dos gases ideais, calculamos a quantidade de mols de ar ( $\Delta n$ ), descarregada do galho através do reservatório de vácuo, conforme a (Eq. 2):

$$\Delta n = (P_{\rm f} - P_{\rm i}) \, V / RT \tag{2}$$

de modo que *V* representou o volume do reservatório de vácuo (0,0082 L), *R* a constante de gás (8,314 kPa L mol<sup>-1</sup> K<sup>-1</sup>) e *T* a temperatura do ambiente. Então, também de acordo com a

lei dos gases ideais, calculamos o volume do ar descarregado (AD;  $\mu$ l) transformando  $\Delta$ n em um volume equivalente de ar à pressão atmosférica (Patm; kPa) conforme a (Eq. 3):

$$AD = (\Delta n RT Patm)*106$$
[3]

Obtivemos a porcentagem de ar liberado (PAL; %), de forma análoga à porcentagem de perda de condutividade (PPC; %), (Eq. 4):

$$PAL = 100 * (ADi - ADmin) / (ADmax - ADmin)$$
[4]

de modo que ADi é o volume de ar descarregado em cada medição, AD<sub>min</sub> foi o volume mínimo de ar descarregado quando o galho estava totalmente hidratado e AD<sub>max</sub> o volume máximo de ar descarregado no menor potencial de água do xilema. Portanto, consideramos o ar inicial descarregado de um galho totalmente hidratado como um ponto de referência, o que explicou o volume de ar não conduzido entre espaços intercelulares e ar externo. Construímos a curva de vulnerabilidade do xilema com os valores de PAL (Pammenter & Willigen, 1998), segundo a (Eq. 5):

$$PAL = 100 / (1 + \exp((S / 25) (\Psi - b)))$$
[5]

#### 2.6 Medições dos traços estomáticos e variáveis ambientais

Para medição dos traços estomáticos aplicamos esmalte incolor na superfície abaxial e adaxial do centro de uma folha por indivíduo. Após a secagem, sobrepusemos uma fita adesiva no local da aplicação, de modo que a fita adesiva com o esmalte impresso funcionou como um "negativo" da epiderme foliar. Fixamos o material coletado em uma lâmina de vidro e levamos para o microscópio óptico Olympus BX41-TF, com uma câmera acoplada (Kröber *et al.*, 2015). Utilizamos uma escala em micrômetro ( $\mu$ m) e fotos com ampliação de 100x para determinarmos a DE e de 400x para aferirmos o TE. Analisamos as imagens com software de processamento de imagens de código aberto, ImageJ (2015). Contamos os estômatos em uma área de 50.000  $\mu$ m<sup>2</sup> por amostra e extrapolamos para (0,01 mm<sup>2</sup>), a aferição estomática se deu apenas do lado abaxial da folha. A fim de determinarmos a DE, aplicamos a fórmula DE = número de estômatos/área mm<sup>2</sup>. Por fim, medimos o comprimento (CG;  $\mu$ m) da célula guarda estomática também denominada tamanho estomático (Kröber *et al.*, 2015; Willmer & Fricker, 1996).

Para obtermos as variáveis ambientais de umidade e temperatura, utilizamos um datalogger HT-500, instalado no interior da floresta à 10m de altura. Para calcular o DPV

fizemos uso dos valores de umidade relativa e temperatura do ar nos mesmos horários das coletas da curva diurna do  $\Psi$ f. Para estimar a pressão de saturação de vapor d'água usamos a fórmula proposta por August-Roche Magnus (Murray, 1967), conforme (Eq. 6). Dessa maneira, aferimos o DPV e o correlacionamos com o  $\Psi$ f, e assim estabelecemos o CE:

$$e_{\rm s}(T) = 6.1094^{17.6257 \text{ T/T} + 243.04}$$

de modo que  $e_s$  = pressão de saturação de vapor da água no ar (kPa) e T = temperatura (C°).

#### 2.7 Análise de dados

O diagrama conceitual (Fig. 4) apresenta as variáveis coletadas, agrupando-as de acordo com as suas interações com a árvore e variáveis ambientais, que proporcionam uma melhor compreensão sobre como elas se relacionaram para a construção da curva de vulnerabilidade do xilema, e como o comportamento, DE e TE estomático se relacionam com suas variáveis preditoras.



**Fig. 4** Diagrama conceitual contendo a espécie estudada *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* elipse tracejada. A variável preditora são representadas pelas cinco classes de diâmetro que se relacionam diretamente com as variáveis contidas na elipse preta. A elipse azul inclui as variáveis coletadas no período chuvoso e variáveis que fazem parte da curva de vulnerabilidade do xilema. O  $\Psi_x$  juntamente com PAL forneceram os valores para a construção da curva de vulnerabilidade do xilema ( $\Psi_{50}$ ,  $\Psi_{88}$  e MSH). Na elipse vermelha

estão as variáveis coletadas no período seco, em que o  $\Psi_{min}$  foi obtido por meio do  $\Psi_{f}$  coletado entre 12:00 h e 14:00 h. O  $\Psi_{mad}$  coletado na madrugada também nos forneceu o potencial hídrico da rizosfera  $\Psi_{r}$ . O DPV juntamente com  $\Psi_{f}$ , indicou o CE da espécie. DE e TE, foram relacionados com as classes de diâmetro.

Utilizamos o teste de normalidade de Shapiro-Wilk (1965) para determinar se os dados possuem uma distribuição normal. Testamos a homocedasticidade das variâncias com o Bartlett. test, e utilizamos a análise de variância ANOVA para dados paramétricos, a fim de avaliar se existem diferenças estatísticas entre todas variáveis hidráulicas dentro das diferentes classes de diâmetro e altura. Para identificarmos diferenças entre as variáveis hidráulicas dos galhos do topo da copa expostos a luz direta e galhos inferiores do primeiro terço da copa (sombreados) dos indivíduos da classe cinco, realizamos o teste pareado de Wilcoxon (1945). Utilizamos o modelo de regressão linear simples para uma análise de causa e efeito do diâmetro dos indivíduos sobre todas as variáveis hidráulicas e analisamos os efeitos do DPV sobre o  $\Psi$ f, no qual verificamos o CE. Realizamos essas análises no software R versão 3.6.0 (R Core Team 2018), assumindo níveis de significância de 5% e fizemos os gráficos da curva diurna do DPV e  $\Psi$ f no programa Microsoft Excel<sup>®</sup>.

#### 3. Resultados

A média geral das métricas de resistência a embolia do xilema nas cinco classes de diâmetro foram: ( $\Psi$ 50:  $\pm$  -3,47;  $\Psi$ 88:  $\pm$  -5,34 MPa). As margens de segurança hidráulica para as cinco classes de diâmetro tiveram média geral de: (MSH50:  $\pm$  2,24; MSH88:  $\pm$  3,284 MPa). Já as classes de altura apresentaram média geral de: ( $\Psi$ 50:  $\pm$  -3,34;  $\Psi$ 88:  $\pm$  -5,09 MPa). As margens de segurança hidráulica tiveram média geral de: (MSH50:  $\pm$  2,17; MSH88:  $\pm$  3,01 MPa). As médias das classes de diâmetro 4 e 5 juntas foram: ( $\Psi$ 50:  $\pm$  -3,586;  $\Psi$ 88:  $\pm$  -5,867; MSH50:  $\pm$  2,163; MSH88:  $\pm$  3,878 MPa) enquanto, as classes de diâmetro 1, 2 e 3 juntas, obtiveram as seguintes médias gerais: ( $\Psi$ 50:  $\pm$  -3,395;  $\Psi$ 88:  $\pm$  -5,002; MSH50:  $\pm$ 2,302; MSH88: 2,887 MPa).

As classes de altura apresentaram as seguintes médias dos potenciais hídricos de resistência do xilema à embolia: (classe 1:  $\Psi$ 50:  $\pm$  -3,068;  $\Psi$ 88:  $\pm$  -5,087 MPa), (classe 2:  $\Psi$ 50:  $\pm$  -3,605;  $\Psi$ 88:  $\pm$  -5,121 MPa), (classe 3:  $\Psi$ 50:  $\pm$  -3,509;  $\Psi$ 88:  $\pm$  -5,998 MPa). As margens de segurança hidráulica para as classe de altura foram as seguintes: (classe 1: MSH50:  $\pm$  1,760; MSH88:  $\pm$  2,66 MPa), (classe 2: MSH50:  $\pm$  2,364; MSH88:  $\pm$  3,273 MPa), (classe 3: MSH50:  $\pm$  2,025; MSH88:  $\pm$  3,775 MPa).

Apesar de ocorrer variações entre as métricas de resistência à embolia do xilema, não observamos diferenças estatísticas significativas entre as cinco classes de diâmetro em relação às variáveis de resistência à cavitação ( $\Psi$ 50: F = 0,426; P = 0,787, Fig. 5a) e ( $\Psi$ 88: F = 1,246; P = 0,353, Fig. 5b) e nem diferenças entre (MSH50: F = 0,672; P = 0,626, Fig. 5c) e (MSH88: F = 0,936; P = 0,482, Fig. 5d), do mesmo modo para ( $\Psi$ mad: F = 3,327; P = 0,051, Fig. 5e) e ( $\Psi$ min: F = 0,743; P = 0,584, Fig. 5f). Também não encontramos diferenças estatísticas significativas entre os traços estomáticos em função das classes de diâmetro: (TE: F = 1,277; P = 0,329, Fig. 5g) e (DE: F = 1,681; P = 0,214, Fig. 5h).



**Fig. 5** Variáveis hidráulicas em função das classes de diâmetro (a, b, c, d, e, f, g, h) de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* na Fazenda Experimental Catuaba, Senador Guiomard, Acre. A linha tracejada é a média entre as classes de diâmetro, a barra dentro da caixa representa a mediana, as extremidades das caixas até a mediana representam o primeiro e o terceiro quartil e as linhas verticais das caixas representam os valores mínimos e máximos para as variáveis em função das classes de diâmetro.

Não evidenciamos significância estatística entre as variáveis hidráulicas e as classes de altura, como segue: ANOVA  $\Psi_{50}$  (F = 0,803; P = 0,38; Fig. 6a),  $\Psi_{88}$  (F = 2,93; P = 0,11; Fig. 6b), MSH<sub>50</sub> (F = 0,633; P = 0,441; Fig. 6c), MSH<sub>88</sub> (F = 2,36; P = 0,14; Fig. 6d), exceto para  $\Psi_{mad}$  (F = 4,479; P = 0.05; Fig. 6e),  $\Psi_{min}$  também não diferiu significativamente (F = 0,08; P = 0,78; Fig. 6f).



**Fig. 6** Variáveis hidráulicas em função das classes de altura (a, b, c, d, e, f) de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* na Fazenda Experimental Catuaba, Senador Guiomard, Acre. A barra dentro da caixa representa a mediana, as extremidades das caixas até a mediana representam o primeiro e o terceiro quartil e as linhas verticais das caixas representam os valores mínimos e máximos para as variáveis em função das classes de altura.

De modo geral, as regressões lineares simples não identificaram efeitos das classes de diâmetro sobre as variáveis preditas, como observamos: ( $\Psi$ 50:  $r^2 = 0,039$ ; gl = 13; P = 0,48; Fig. 7a), ( $\Psi$ 88:  $r^2 = 0,1342$ ; gl = 13; P = 0,179; Fig. 7b), (MSH50:  $r^2 = 0,0130$ ; gl = 13; P = 0,685; Fig. 7c) e (MSH88:  $r^2 = 0,066$ ; gl = 13; P = 0,352; Fig. 7d). Somente o  $\Psi$ mad ( $r^2 = 0,368$ ; gl = 13; P = 0,016; Fig. 7e) apresentou linearidade para a classe cinco. O  $\Psi$ mad foi em torno de três vezes mais negativo para os indivíduos mais grossos e altos, variando de ( $\Psi$ mad: -0,317 MPa) para os indivíduos menores das classe um e dois, até ( $\Psi$ mad: -0,965 MPa) para indivíduos maiores da classe cinco nos galhos sombreados da parte inferior da copa e ( $\Psi$ mad: -1,114 MPa) nos galhos do topo da copa dos mesmos indivíduos da classe cinco. O  $\Psi$ min foi ( $r^2 = 0,006$ ; gl = 13; P = 0,770; Fig. 7f). As regressões para as variáveis dos traços estomáticos não apresentaram resultados significativos, temos: (TE:  $r^2 = 0,095$ ; gl = 13; P = 0,262; Fig. 7g), (DE:  $r^2 = 0,061$ ; gl = 13; P = 0,372; Fig. 7h). Houve relação de causa e efeito entre DPV e  $\Psi$ f ( $r^2 = 0,65$ ; gl = 54; P < 0,001; Fig. 7i).



**Fig. 7** Modelo linear simples para testar os efeitos do diâmetro sobre as propriedades hidráulicas (a, b, c, d, e, f, g, h) e DPV sobre potencial hídrico foliar (i) de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* Fazenda Experimental Catuaba, Senador Guiomard, Acre.

Não foram observadas diferenças estatísticas significativas entre as variáveis hidráulicas dos galhos do topo da copa expostos a luz direta e galhos inferiores sombreados do primeiro terço da copa dos indivíduos da classe cinco:  $\Psi_{50}$  (W = 1; p-value = 0,5, Fig. 9a) e  $\Psi_{88}$  (W = 2; p-value = 0,75, Fig. 9b), MSH<sub>50</sub> (W = 3, p-value = 1, Fig. 9c) e MSH<sub>88</sub> (W = 3; p-value = 1, Fig. 9d).



**Fig. 8** Comparação das variáveis hidráulicas dos indivíduos da classe cinco (a, b, c, d) galhos iluminados (A) com os galhos sombreados (B) extraídos dos indivíduos de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* na Fazenda Experimental Catuaba, Senador Guiomard, Acre.

Não encontramos diferenças significativas nas curvas de vulnerabilidade do xilema entre as diferentes classes de diâmetro, muito menos entre os galhos da copa superior expostos a incidência solar e os galhos sombreados. Por esse motivo, construímos as curvas de vulnerabilidade do xilema utilizando sempre os dados dos galhos coletados no topo da copa (Fig. 9). Ao relacionarmos as variáveis de  $\Psi$ f e DPV o comportamento estomático indicou uma tendência anisohídrica, tendo em vista que o  $\Psi$ f acompanhou as flutuações do DPV (Fig. 10).



**Fig. 9** Curvas de vulnerabilidade do xilema de acordo com as classes de diâmetro de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov*. Fazenda Experimental Catuaba, Senador Guiomard, Acre. Linhas tracejadas, potencial hídrico onde ocorreu 50% de embolismo; linha reta contínua, slope da curva, diferença entre o quanto que o xilema perdeu de condutividade hidráulica e aumentou negativamente o  $\Psi_x$  para passar de  $\Psi_{50}$  para  $\Psi_{88}$ ; faixa cinza margem de segurança hidráulica.



**Fig. 10** Curvas diurnas do potencial hídrico foliar de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov*. Fazenda Experimental Catuaba, Senador Guiomard, Acre.  $\Psi$ f - linha laranja e curvas diurnas do DPV - linha azul. A regulação estomática se demonstrou mais aberta, não havendo o fechamento dos estômatos nos horários de maior estresse hídrico. Ao invés disso, o  $\Psi$ f acompanhou as alterações da variável ambiental DPV.

#### 4. Discussão

#### 4.1 Comportamento de Protium (sect. Tetragastris) sp. nov. à cavitação 4950, 4988

Em uma comunidade vegetal, as plantas podem diferir quanto aos traços funcionais para evitar ou tolerar a seca ao longo de um gradiente de disponibilidade de água, no sentido de evitar a competição (Silvertown *et al.*, 2015). Essas características incluem a capacidade de absorção de água através de enraizamento em diferentes profundidades ou de captação de água foliar, diferenças no controle estomático e diferenças na estrutura do xilema (Araya *et al.*, 2011; Vinya *et al.*, 2013; Oliveira *et al.*, 2014; Eller, Lima & Oliveira, 2016; Pina *et al.*, 2016; Brum *et al.*, 2017). Os nossos resultados apontam uma oposição para *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* em relação ao que foi encontrado em estudos anteriores sobre a mortalidade de árvores grandes induzidas pelos processos de falhas hidráulicas, uma vez que não encontramos diferenças nas características hidráulicas entre as classes de tamanho.

Por exemplo, um estudo de exclusão de precipitação de chuva conduzido por Fisher *et al.* (2007) e da Costa *et al.* (2010), na região leste da Amazônia, aponta para uma taxa anual de mortalidade arbórea cerca de três vezes superior para as árvores de grande porte, com diâmetro à altura do peito acima de 40 cm, quando comparada com a taxa nas áreas controle, sem alteração dos níveis de precipitação. Na Floresta Nacional do Tapajós, Nepstad *et al.* (2007) relataram, em outro estudo de exclusão de precipitação, aumentos significativos na mortalidade de caules após três anos de exclusão da precipitação, particularmente de árvores de grande porte, cujas taxas de mortalidade de caules aumentaram 4,5 vezes. Rowland *et al.* (2015), via comparação intragenérica, em seu estudo realizado na Reserva Florestal Nacional de Caxiuanã, Estado do Pará, Brasil, constataram que as árvores menores são mais resistentes ao embolismo do que indivíduos maiores.

Em um estudo não publicado para vários táxons e 129 espécies de árvores de copa e sub-copa dominantes (Tavares *et al.*, in prep.), coletadas na região pan-amazônica, encontrou-se diferentes médias nas métricas de resistência à embolia e margens de segurança hidráulica. As florestas sazonais da Amazônia Ocidental tiveram resistência hidráulica média de ( $\Psi$ 88: -3,02 ± 0,21 MPa), e florestas sazonais do centro-leste na Amazônia Centro-Oriental de ( $\Psi$ 88: -4,28 ± 0,25 MPa). Descobrimos que as árvores de copa e sub-copa de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* representada pelas classes de diâmetro quatro e cinco, apresentaram média de resistência a embolia mais elevada e resistência hidráulica média do xilema ( $\Psi$ 88: ± 37 %) superior à média da Amazônia Centro-Oriental. Quando comparado com a média geral das cinco classes de diâmetro, o  $\Psi$ 88 foi em torno de 25 % superior à média da Amazônia Centro-Oriental, demonstrando uma grande resistência hidráulica da

espécie durante a sua ontogenia. No entanto, essas médias estão dentro da variação amostrada para  $\Psi_{88}$  de algumas espécies encontradas no estudo ainda não publicado das características hidráulicas de árvores na bacia amazônica que é de ( $\Psi_{88}$ : -7,14 a -0,52 MPa).

Nesse mesmo estudo (Tavares *et al.*, in prep.), foi descoberto que mais de dois terços de todos os táxons analisados operam dentro de 1 MPa do limiar de  $\Psi_{88}$  e com margem de segurança média (MSH<sub>88</sub>: ± 1,70 MPa). Verificamos que as classes de diâmetro quatro e cinco de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* operam com margens de segurança média mais ampla para os indivíduos de copa e sub-copa, isso representa (HSM<sub>88</sub>: ± 128 %) a mais, comparado com a média geral de MSH<sub>88</sub> de dois terços de táxons estudados na bacia amazônica. Porém, *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* está dentro da variação de MSH<sub>88</sub> encontrada para algumas espécies da bacia amazônica (MSH<sub>88</sub>: -1,64 a 6,08 MPa), (dados não publicados). Tanto as médias  $\Psi_{88}$  e MSH<sub>88</sub> para as classes de altura, permaneceram superior às encontradas na Amazônia Centro-Oriental.

Para Brum *et al.* (2018), variações morfológicas e organização do sistema radicular em diferentes profundidades podem facilitar a prevenção ao estresse hídrico e promover a resistência a ele. Dessa forma, a menor resistência ao embolismo apresentada por árvores de grande porte pode ser explicada pela profundidade da raiz, de modo que árvores maiores são mais profundamente enraizadas e conseguem acessar o lençol freático profundo, evitando o estresse hídrico e sustentando a troca gasosa por períodos mais longos de escassez de água, sem a necessidade de ajustar a regulação fisiológica. No entanto, elas são mais propensas ao estresse hídrico sazonal sob ciclos de seca de longo prazo. Segundo Niinemets (2010), espécies com raízes superficiais normalmente dependem mais da disponibilidade de água, especialmente sob condições de alto DPV, comuns durante as secas, o que pode causar declínios no potencial hídrico da planta e demandar estratégias de tolerância à seca.

Levando em consideração as descobertas feitas por Brum *et al.* (2018) com relação aos nichos hidrológicos e às respostas hidráulicas das plantas em diferentes nichos apresentadas pelas espécies estudadas por ele, encontramos aqui uma tendência inversa para *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.*, tendo em vista que os indivíduos maiores apresentaram uma resistência homogênea para  $\Psi_{50}$  e  $\Psi_{88}$ , comparada com indivíduos de classes de diâmetro menores, da mesma forma que as métricas hidráulicas e margens de segurança também não diferiram estatisticamente entre as classes de diâmetro e altura. Desse modo, iremos focar nas médias das métricas de  $\Psi_{88}$  e MSH<sub>88</sub>, por se tratar de um momento extremamente crítico, onde 88% dos condutos xilemáticos encontram-se embolizados, representando uma situação mais letal para angiospermas (Urli *et al.*, 2013; Choat *et al.*, 2018).

Nossos resultados sugerem que os indivíduos das classes maiores não estão conseguindo acessar água em solos mais profundos, devido a um menor comprimento radicular. Dessa forma, levando ao maior declínio hídrico, e assim, apresentando os mesmos valores dos potenciais hídricos dos indivíduos menores, pois estariam em uma faixa de absorção de água do solo aparentemente similar ou com pouca variação espacial. Brum et al. (2018) identificaram uma espécie no sub-bosque, A. longifolia, no qual as árvores com (DAP <30 cm) utilizaram a maior parte da água do solo acima de 1 m de profundidade. Nesse sentido, Protium (sect. Tetragastris) sp. nov, estariam apresentando uma resposta fisiológica ao estresse hídrico compatível com A. longifólia, cujo o DAP se equivaleria aos indivíduos da classe três de nosso estudo. Supomos que as raízes de Protium (sect. Tetragastris) sp. nov. ao chegar a uma certa profundidade, suficiente para dar segurança e estabilidade à árvore, cessaria o seu crescimento e investiria em outras propriedades de resistência ao estresse hídrico, como o xilema por exemplo. No entanto, será preciso um estudo de profundidade da raiz e densidade da madeira da espécie Protium (sect. Tetragastris) sp. nov. para podermos complementar os nossos resultados e acharmos os fatores que estão contribuindo para essa homogeneidade da resistência hidráulica dos indivíduos maiores com os menores.

#### 4.2 Transpiração noturna

O resultado do  $\Psi_{mad}$  em relação aos indivíduos maiores foi uma surpresa, pois o negativo potencial hídrico na madrugada poderia estar evidenciando um processo de perda de água noturna ou transpiração noturna possivelmente decorrente do fechamento incompleto dos estômatos. Vários estudos documentaram a ampla ocorrência de transpiração noturna e sugeriram suas possíveis causas e significância, por exemplo, na promoção do suprimento de nutrientes (Scholz *et al.*, 2007) e na exportação de carboidratos (Marks & Lechowicz, 2007). Se o turgor das folhas for suficientemente alto à noite para permitir que os estômatos permaneçam abertos, isso pode trazer benefícios para as trocas gasosas respiratórias (Daley & Phillips, 2006; Marks & Lechowicz, 2007; Mott & Peak, 2010).

A transpiração noturna como consequência do fechamento estomático incompleto, foi observada em uma variedade de espécies e ecossistemas sob várias condições microclimáticas (Zeppel *et al.*, 2013) e, é frequentemente correlacionado positivamente com o DPV noturno (Hogg & Hurdle, 1997; Christman *et al.*, 2009; Zeppel *et al.*, 2010; Pfautsch *et al.*, 2011; Zeppel *et al.*, 2012), e velocidade do vento (Benyon, 1999; Phillips *et al.*, 2010), ou ao conteúdo de água no solo (Cavender-Bares *et al.*, 2007; Zeppel *et al.*, 2012). Embora geralmente menor em magnitude em relação à transpiração diurna, ela é, no entanto, significativa o suficiente para causar impactos potenciais nas relações hídricas de toda a planta e na hidrologia do ecossistema (Dawson *et al.*, 2007; Wood *et al.*, 2008). Mott & Peak (2010), por sua vez, relatam que a base dos mecanismos de respostas estomáticas à umidade e temperatura se aplicam no dia e na noite, embora com diferentes limiares e sensibilidades.

Rosado *et al.* (2012), observaram que em algumas espécies da Floresta Atlântica, o DPV noturno nas copas das árvores influenciou o aumento nos níveis de condutância estomática. Embora pouco se saiba sobre os controles da transpiração noturna, uma relação positiva fortemente linear entre o fluxo de seiva e o DPV, tem sido documentada em vários ecossistemas, sugerindo que DPV é a força motriz ambiental mais importante para a perda de água noturna, e que a condutividade da copa é constante (Fisher *et al.*, 2007; Dawson *et al.*, 2007). Apesar da evidente diferença dos  $\Psi_{mad}$  entre os indivíduos maiores e menores, só poderemos saber com mais certeza os processos hidráulicos noturnos com acompanhamentos e medidas noturnas mais específicas.

#### 4.3 Características estomáticas e comportamento estomático

Para algumas espécies, as características estomáticas tamanho e densidade variam com o crescimento do indivíduo e são influenciadas por mudanças ambientais (ver: Zhang *et al.*, 1987; Yoder *et al.*, 1994; Woodward & Kelly, 1995; Jones, 1998; Gutschick, 1999; Oren *et al.*, 1999; Lake *et al.*, 2001; Al Afas *et al.*, 2006; Shimazaki *et al.*, 2007; Eller *et al.*, 2015). As características estomáticas, tamanho e densidade de *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* permaneceram constantes em todos os indivíduos, não diferindo entre as classes de diâmetro, o que demonstra uma particularidade da espécie, que mantém um padrão na densidade e tamanho estomático, tanto para os indivíduos pequenos, quanto para os grandes. Tal especificidade apresentada por *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* pode estar contribuindo para a constância nos níveis de regulação hídrica detectada em nosso estudo, de modo que, não encontramos diferenças significativas nos potenciais hídricos entre as classes de diâmetros e altura. Desse modo, somente com uma análise de condutância estomática entre as classes, é que poderemos distinguir diferenças de transpiração entre elas.

A classificação isohídrica e anisohídrica é geralmente interpretada em termos de comportamento estomático: as espécies isohídricas mantêm o seu potencial hídrico foliar relativamente estável, precisamente por causa de mais controle estomático estrito, enquanto

as espécies anisohídricas mantêm uma regulação mais livre da transpiração (Jones, 1998; Tardieu & Simonneau, 1998). Observamos através do comparativo  $\Psi f$  com o DPV, que *Protium* (sect. *Tetragastris*) *sp. nov.* indicou um comportamento teoricamente anisohídrico, pois o  $\Psi f$  acompanhou as flutuações ambientais do DPV, fato que, teoricamente aumenta a resistência hídrica de plantas que apresentam esse comportamento. Contudo, somente o  $\Psi f$ não é suficiente para classificar categoricamente o comportamento estomático de qualquer espécie, devido a dinâmica interação hidráulica entre a atmosfera, folhas, caule, raiz, solo e sazonalidade (Martínez-Vilalta & Garcia-Forner, 2017).

#### 5. Conclusão

As razões pelas quais alguns táxons podem ser mais vulneráveis ou não à seca, ainda não são bem conhecidas, as diferenças na vulnerabilidade à seca podem ser conduzidas por diferenças na capacidade das plantas para atrasar o início do estresse hídrico ou em sua capacidade de manter a função apesar da perda de água (Kursar et al., 2009). Devemos considerar então, o conjunto de relações que contribuem para a variabilidade da resistência à cavitação, tais como as diferentes histórias de vida e características intrínsecas da espécie que permite diferentes estratégias hidráulicas. Apesar de não termos encontrado diferenças significativas nas métricas de resistência à cavitação, margem de segurança hidráulica e traços estomáticos entre as diferentes classes de diâmetro e altura da planta, o nosso estudo observou características particulares na resistência ao embolismo e nos traços estomáticos da espécie Protium (sect. Tetragastris) sp. nov., demonstrando diferenças de comportamento fisiológico quando comparado com outras espécies de plantas estudadas em diversos habitats (ver: Fisher et al., 2007; da Costa et al., 2010; Rowland et al., 2015; Olson et al., 2108; Brum et al., 2018). Visto que, Protium (sect. Tetragastris) sp. nov. apresentou constância equivalentes nos potenciais hídrico, margens de segurança e nos traços estomáticos tanto para indivíduos pequenos quanto para os grandes. Assim, recomendamos que os futuros estudos de propriedades hidráulicas de árvores, aumentem o tamanho amostral para se ter uma melhor visão da variação hídrica entre os indivíduos e tentem englobar a planta inteira, incluindo as raízes. Desse modo, poderemos desvendar os vários fatores e controles fisiológicos das plantas, o que também exigirá mais modelagens e medições, a fim de que possamos obter novas respostas.

#### 6. Referências Bibliográficas

- Acre. 2006. Zoneamento ecológico-econômico do Acre fase II documento síntese escala 1:250.000. Rio Branco. *SEMA*: 354.
- Al Afas N, Marron N, Ceulemans R. 2006. Clonal variation in stomatal characteristics related to biomass production of 12 poplar (*Populus*) clones in a short rotation coppice culture. *Environmental and Experimental Botany* 58: 279-286.
- Adams HD, Zeppel MJ, Anderegg WRL, Hartmann H, Landhäusser SM, Tissue DT, Huxman TE, Hudson PJ, Franz TE, Allen CD. *et al.* 2017. A multi-species synthesis of physiological mechanisms in drought-induced tree mortality. *Nature Ecology & Evolution* 1: 1285-1291.
- Anderegg WR, Berry JA, Smith DD, Sperry JS, Anderegg LD, Field CB. 2012. The roles of hydraulic and carbon stress in a widespread climate-induced forest die-off. Proceedings of the National Academy of Sciences 109: 233-237.
- Anderegg WRL, Klein T, Bartlett M, Sack L, Pellegrini AFA, Choat B. 2016. Meta-analysis reveals that hydraulic traits explain cross-species patterns of drought-induced tree mortality across the globe. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 113: 2-7.
- Alencar A, Nepstad D, Diaz MCV. 2006. Forest understory fire in the Brazilian Amazon in ENSO and non-ENSO years: area burned and committed carbon emissions. *Earth Interactions* 10: 1-17.
- Aragão LEOC, Anderson LO, Fonseca MG, Rosan TM, Vedovato LB, Wagner FH, Silva CVJ, Silva Junior CHL, Arai E, Aguiar AP, et al. 2018. 21st Century drought-related fires ounteract the decline of Amazon deforestation carbon emissions. *Nature Communications* 9: 536.
- Aragão LEOC, Malhi Y, Barbier N, Lima A, Shimabukuro Y, Anderson L, Saatchi S. 2008. Interactions between rainfall, deforestation and fires during recent years in the Brazilian Amazonia. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*363: 1779-1785.
- Araya YN, Silvertown J, Gowing DJ, Mcconway KJ, Linder HP & Midgley G. 2011. A fundamental, eco-hydrological basis for niche segregation in plant communities. *New Phytologist* 189(1): 253-258.
- Bennett AC, McDowell NG, Allen CD, Anderson-Teixeira KJ. 2015. Larger trees suffer most during drought in forests worldwide. *Nature Plants* 1: 15139.
- Benyon RG. 1999. Nighttime water use in an irrigated Eucalyptus grandis plantation. *Tree Physiology* 19: 853-859.
- Bittencourt P, Pereira L & Oliveira R. 2018. Pneumatic Method to Measure Plant Xylem Embolism. *Bio-Protocol* 8: 1-14.

- Bittencourt PRL, Pereira L, Oliveira RS. 2016. On xylem hydraulic efficiencies, wood space-use and the safety-efficiency tradeoff. *New Phytologist* 211: 1152-1155.
- Blackman CJ, Brodribb TJ, Jordan GJ. 2012. Leaf hydraulic vulnerability influences species' bioclimatic limits in a diverse group of woody angiosperms. *Oecologia* **168**: 1-10.
- Blackman CJ, Gleason SM, Chang Y, Cook AM, Laws C, Westoby M. 2014. Leaf hydraulic vulnerability to drought is linked to site water availability across a broad range of species and climates. *Annals of Botany* 114: 435-440.
- **Bonal D, Guehl JM**. **2011**. Contrasting patterns of leaf water potential and gas exchange responses to drought in seedlings of tropical rainforest species. *Functional Ecology* **15**: 490-496.
- Brodribb TJ, Cochard H. 2009. Hydraulic failure defines the recovery and point of death in waterstressed conifers. *Plant Physiology* **149**: 575-584.
- **Brodribb TJ, Holbrook NM**. **2007**. Forced depression of leaf hydraulic conductance in situ: effects on the leaf gas exchange of forest trees. *Functional Ecology* **21**: 70-712.
- Brodribb TJ, Holbrook NM, Edwards EJ, Gutierrez MV. 2003. Relations between stomatal closure, leaf turgor and xylem vulnerability in eight tropical dry forest trees. *Plant, Cell & Environment* 26: 443-450.
- Brodribb TJ, Holbrook NM, Zwieniecki MA, Palma B. 2005. Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima. *New Phytologist* 165: 839-846.
- Brown HT, Escombe F. 1900. Static diffusion of gases and liquids in relation to the assimilation of carbon and translocation in plants. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 193: 223-291.
- Brum M, Teodoro GS, Abrahão A & Oliveira RS. 2017. Coordination of rooting depth and leaf hydraulic traits defines drought-related strategies in the campos rupestres, a tropical montane biodiversity hotspot. *Plant and Soil* 420(1-2): 467-480.
- Brum M, Vadeboncoeur MA, Ivanov V, Asbjornsen H, Saleska S, Alves LF, Penha D, Dias JD, Aragão LEOC, Barros F, *et al.* 2018. Hydrological niche segregation defines forest structure and drought tolerance strategies in a seasonal Amazon forest. *Journal of Ecology* 107: 318-333.
- Buckley TN. 2005. The control of stomata by water balance. New Phytologist 168: 275-292.
- **Caird MA, Richards JH, Donovan LA**. **2007**. Nighttime stomatal conductance and transpiration in C3 and C4 plants. *Plant Physiolgy* **143**: 4-10.
- Castro W, Salimon CI, Medeiros H, Da Silva IB, Silveira M. 2013. Bamboo abundance, edge effects, and tree mortality in a forest fragment in southwestern Amazonia. *Scientia Forestalis/ Forest Sciences* 41: 159-164.
- Cavender-Bares J, Sack L, Savage J. 2007. Atmospheric and soil drought reduce nocturnal conductance in live oaks. *Tree physiology* 27: 611-620.

- Christman MA, James JJ, Drenovsky RE, Richards JH. 2009. Environmental stress and genetics influence night-time leaf conductance in the C4 grass *Distichlis spicata*. *Functional Plants Biology* 36: 50-55.
- Chazdon RL, Fetcher N. 1984. Photosynthetic light environments in a lowland tropical rain forest in Costa Rica. *Journal of Ecology* 72: 553-564.
- Choat B, Jansen S, Brodribb TJ, Cochard H, Delzon S, Bhaskar R, Bucci SJ, Feild TS, Gleason SM, Hacke UG, et al. 2012. Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature* 491: 752-755.
- Choat B, Brodribb TJ, Brodersen CR, Duursma RA, López R, Medlyn B E. 2018. Triggers of tree mortality under drought. *Nature* **558**: 531–539.
- Cochard H, Badel E, Herbette S, Delzon S, Choat B, Jansen S. 2013. Methods for measuring plant vulnerability to cavitation: a critical review. *Journal of Experimental Botany* 64: 4779-4791.
- **Company PMSI**. Operating Instructions, Model 1505D. *Pressure chamber instrument. Albany*, OR-USA.
- **Crombie DS**. **1983**. The physiology of the cavitation of xylem sap. PhD thesis, Glasgow University, *Glasgow*, UK 3475.
- da Costa ACL, Galbraith D, Almeida S, Portela BTT, da Costa M, de Athaydes Silva Junior J, Braga AP, de Gonçalves PHL, de Oliveira AA, Fisher R, *et al.* 2010. Effect of 7 yr of experimental drought on vegetation dynamics and biomass storage of an eastern Amazonian rainforest. *New Phytologist* 187: 579-591.
- **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.
- Day ME, Greenwood MS. 2011. Regulation of ontogeny in temperate conifers. in: Meinzer FC, Lachenbruch B, Dawson T E, Eds. Size-and age-related changes in tree structure and function. 04th ed. Springer 04: 91-119.
- Delzon S, Douthe C, Sala A, Cochard H. 2010. Mechanism of water-stress induced cavitation in conifers: bordered pit structure and function support the hypothesis of seal capillary-seeding. *Plant, Cell & Environment* 33: 2101-2111.
- **Duarte AF**. **2006**. Aspectos da climatologia do Acre, Brasil, com base no intervalo 1971-2000. *Revista Brasileira de Meteorologia* **21**: 308-317.
- **Duffy PB, Brando P, Asner GP, Field CB**. **2015**. Projections of future meteorological drought and wet periods in the Amazon. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **112**: 13172-13177.

- Eller CB, Burgess SSO, Oliveira RS. 2015. Environmental controls in the water use patterns of a tropical cloud forest tree species, *Drimys brasiliensis* (Winteraceae). *Tree Physiology* 35: 387-399.
- Eller CB, Lima AL & Oliveira RS. 2016. Cloud forest trees with higher foliar water uptake capacity and anisohydric behavior are more vulnerable to drought and climate change. New Phytologist: 211(2): 489-501.
- Engelbrecht, BMJ. 2012. Plant ecology: Forests on the brink. Nature 491: 675.
- Engelbrecht BMJ, Comita LS, Condit R, Kursar TA, Tyree MT, Turner BL, Hubbell SP. 2007. Drought sensitivity shapes species distribution patterns in tropical forests. *Nature* 447: 80-82.
- Fisher RA, Williams M, da Costa AL, Malhi Y, da Costa RF, Almeida S, Meir P. 2007. The response of an eastern Amazonian rain forest to drought stress: results and modelling analyses from a throughfall exclusion experiment. *Global Change Biology* 13: 1-18.
- Franks PJ, Beerling DJ. 2009. Maximum leaf conductance driven by CO2 effects on stomatal size and density over geologic time. *Proceedings of the National Academy of Sciences: Biological Sciences* 106: 10343-10347.
- Franks PJ, Drake PL, Beerling DJ. 2009. Plasticity in maximum stomatal conductance constrained by negative correlation between stomatal size and density: an analysis using *Eucalyptus* globulus. Plant, Cell & Environment 32: 1737-1748.
- Fu R, Dickinson RE, Chen M, Wang H. 2001. How do tropical sea surface temperatures influence the seasonal distribution of precipitation in the equatorial Amazon? *Journal of Climate* 14: 4003-4026.
- Gleason SM, Butler DW, Ziemi\_nska K, Waryszak P, Westoby M. 2012. Stem xylem conductivity is key to plant water balance across Australian angiosperm species. *Functional Ecology* 26: 343-352.
- Gutschick VP. 1999. Biotic and abiotic consequnces of differences in leaf structure. *New Phytologist* 143: 3-18.
- Hacke UG, Sperry JS, Feild TS, Sano Y, Sikkema EH, Pittermann J. 2007. Water transport in vesselless angiosperms: conducting efficiency and cavitation safety. *International Journal* of Plant Sciences 168: 1113-1126.
- Hacke UG, Sperry JS. 2001. Functional and ecological xylem anatomy. in: Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics. *Elsevier* 4: 97-115.
- **Hogg EH, Hurdle PA**. **1997**. Sap flow in trembling aspen implications for stomatal responses to vapor pressure deficit. *Tree Physiology* **17**: 501-509
- Hubbard RM, Ryan MG, Stiller V, Sperry JS. 2001. Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant, Cell & Environment* 24: 113-121.

ImageJ. 2015. imagej.nih.gov. Available at: http://imagej.nih.gov/ij/docs/concepts.html.

- Jiménez-Muñoz JC, Mattar C, Barichivich J, *et al.* 2016. Record-breaking warming and extreme drought in the Amazon rainforest during the course of El Niño 2015–2016. *Scientific Reports* 6.
- Jones HG. 1998. Stomatal control of photosynthesis and transpiration. *Journal of Experimental Botany* 49: 387-398.
- Klein T. 2014. The variability of stomatal sensitivity to leaf water potential across tree species indicates a continuum between isohydric and anisohydric behaviours. *Functional Ecology* 28: 1313-1320.
- Klein K. 2015. NOAA predicts strong El Niño. Eos 96.
- Kröber W, Plath I, Heklau H, Bruelheide H. 2015. Relating stomatal conductance to leaf functional traits. *Journal of Visualized Experiments* 104: 52738.
- Kursar TA, Engelbrecht BMJ, Burke A, Tyree MT, Omari BEI, Giraldo JP. 2009. Tolerance to low leaf water status of tropical tree seedlings is related to drought performance and distribution. *Functional Ecology* 23: 93-102.
- Lake JA, Quick WP, Beerling DJ, Woodward FI. 2001. Signals from mature to new leaves. *Nature* 411: 154.
- Laurance WF, Williamson GB. 2001. Positive feedbacks among forest fragmentation, drought, and climate change in the Amazon. *Conservation Biology* 15: 1529-1535.
- Lawson T, James W, Weyers J. 1998. A surrogate measure of stomatal aperture. *Journal of Experimental Botany* 49: 1397-1403.
- Malhi Y, Roberts JT, Betts RA, Killeen TJ, Li W, Nobre CA. 2008. Climate change, deforestation, and the fate of the Amazon. *Science* **319**: 169-172.
- Marengo JA, Nobre CA, Tomasella J, et al. 2008. The drought of Amazonia in 2005. Journal of Climate 21: 495-516.
- Marengo JA, Tomasella J, Alves LM, Soares WR, Rodriguez DA. 2011. The drought of 2010 in the context of historical droughts in the Amazon region. *Geophysical Research Letters* 38: L12703.
- Marks CO, Lechowicz MJ. 2007. The ecological and functional correlates of noc-turnal transpiration. *Tree Physiology* 27: 577-584.
- Martínez-Vilalta J, Garcia-Forner N. 2017. Water potential regulation, stomatal behaviour and hydraulic transport under drought: deconstructing the iso/anisohydric concept. *Plant*, *Cell & Environment* 40: 962-976.
- Martínez-Vilalta J, Poyatos R, Aguade D, Retana J, Mencuccini M. 2014. A new look at water transport regulation in plants. *New Phytologist* 204: 105-115.
- Maseda PH, Fernandez RJ. 2006. Stay wet or else: three ways in which plants can adjust hydraulically to their environment. *Journal of Experimental Botany* 57: 3963-3977.

- McDowell NG & Allen CD. 2015. Darcy's law predicts widespread forest mortality under climate warming. *Nature Climate Change* **5**: 669-672.
- McDowell, NG, Bond BJ, Hill L, Ryan MG, Whitehead D. 2011. In Size and age related changes in tree structure and function (eds Meinzer, F.C. & Niinemets, U.) *Springer* 255-286.
- McDowell N, Pockman WT, Allen CD, Breshears DD, Cobb N, Kolb T, Plaut J, Sperry J, West A, Williams DG, et al. 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought? New Phytologist 178: 719-739.
- Meinzer FC, Johnson DM, Lachenbruch B, McCulloh KA, Woodruff DR. 2009. Xylem hydraulic safety margins in woody plants: coordination of stomatal control of xylem tension with hydraulic capacitance. *Functional Ecology* 23: 922-930.
- Mott KA, Peak D. 2010. Stomatal responses to humidity and temperature in dark-ness. *Plant, Cell* and Environment 33: 1084-1090.
- Murray FW. 1967. On the computation of saturation vapor pressure. *Journal of Applied Meteorology* 6: 203-204.
- Nepstad DC, Tohver IM, Ray D, Moutinho P, Cardinot G. 2007. Mortality of large trees and lianas following experimental drought in an Amazon forest. *Ecology* 88: 2259-2269
- Niels PRA, Selaya NG. 2011. Ecophysiology of secondary succession in tropical moist forest: scaling from individual traits to whole-plant performance. in: Meinzer FC, Lachenbruch B, Dawson T E, Eds. Size- and age-related changes in tree structure and function. *Springer* 04th ed. 16: 430-454.
- Niinemets U. 2010. Responses of forest trees to single and multiple environmental stresses from seedlings to mature plants: Past stress history, stress interactions, tolerance and acclimation. *Forest Ecology and Management* 260: 1623-1639.
- Oliveira RS, Christoffersen BO, Barros F, Teodoro GS, Bittencourt P, Brum-Jr MM & Viani RAG. 2014. Changing precipitation regimes and the water and carbon economies of trees. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 26(1), 65–82.
- Oren R, Sperry J, Katul G, Pataki D, Ewers B, Phillips N, Schäfer K. 1999. Survey and synthesis of intra-and interspecific variation in stomatal sensitivity to vapour pressure deficit. *Plant, Cell & Environment* 22: 1515-1526.
- Olson ME, Soriano D, Rosell JA, Anfodillo T, Donoghue MJ, Edwards EJ, León-Gómez C, Dawson T, Camarero Martínez JJ, Castorena M et al. 2018. Plant height and hydraulic vulnerability to drought and cold. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 115: 7551–7556.
- **Pammenter NW, Willigen VC. 1998.** A mathematical and statistical analysis of the curves illustrating vulnerability of xylem to cavitation. *Tree Physiology* **18**: 589-593.

- Pereira L, Bittencourt PRL, Oliveira RS, Junior MBM, Barros F V, Ribeiro R V, Mazzafera
  P. 2016. Plant pneumatics: stem airflow is related to embolism new perspectives on methods in plant hydraulics. *New Phytologist* 211: 357-370.
- Pereira L, Domingues-Junior AP, Jansen S, Choat B, Mazzafera P. 2017. Is embolism resistance in plant xylem associated with quantity and characteristics of lignin? *Trees* 32: (2) 349-358.
- Pfautsch S, Keitel C, Turnbull TL, Braimbridge MJ, Wright TE, Simpson RR, O'Brien JA, Adams MA. 2011. Diurnal patterns of water use in Eucalyptus victrix indicate pronounced desiccationrehydration cycles despite unlimited water supply. *Tree Physiology* 31: 1041-1051.
- Phillips OL, Aragão LEOC, Lewis SL, Fisher JB, Lloyd J, Lopez-gonzalez G, Malhi Y, Monteagudo A, Peacock J, et al. 2009. Drought sensitivity of the Amazon rainforest. Science 323: 1344-1347.
- Phillips N, Bond BJ, McDowell NG, Ryan MG. 2002. Canopy and hydraulic conductance in young, mature and old Douglas-fir trees. *Tree Physiology* 22: 205-211.
- Phillips NG, Lewis JD, Logan BA, Tissue DT. 2010. Inter- and intraspecific variation in nocturnal water transport in Eucalyptus. *Tree Physiology* 30: 586-596.
- Pina AL, Zandavalli RB, Oliveira RS, Martins FR & Soares AA. 2016. Dew absorption by the leaf trichomes of Combretum leprosum in the Brazilian semiarid region. *Functional Plant Biology* 43(9): 851-861.
- Pockman WT, Sperry JS, O'Leary JW. 1995. Sustained and significant negative water pressure in xylem. *Nature* 378: 715-716.
- Poorter L, McDonald I, Alarc\_on A, Fichtler E, Licona JC, Pe~na-Claros M, Sterck F, Villegas Z, Sass-Klaassen U. 2010. The importance of wood traits and hydraulic conductance for the performance and life history strategies of 42 rainforest tree species. *New Phytologist* 185: 481-492.
- **R Core Team. 2018**. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.
- Roberts J, Cabral, OMR, Aguiar, L Fde. 1990. Stomatal and boundary-layer conductances in an Amazonian terra firme rain forest. *Journal of Applied Ecology* 27: 336-353.
- Rosado BHP, Oliveira RS, Joly CA, Aidar MPM, Burgess SSO. 2012. Diversity in nighttime transpiration behavior of woody species of the Atlantic Rain Forest, Brazil. *Agricultural Forest Meteorology* 158-159: 13-20.
- Ryan MG, Phillips N & Bond BJ. 2006. The hydraulic limitation hypothesis revisited. *Plant, Cell & Environment* 29: 367-381.
- Rowland L, Costa ACL, Galbraith DR, Oliveira RS, Binks OJ, Oliveira AAR, Pullen AM, Doughty CE, Metcalfe DB, Vasconcelos SS, et al. 2015. Death from drought in tropical forests is triggered by hydraulics not carbon starvation. *Nature* 528: 119-122.

- 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.
- Sevanto S, Mcdowell NG, Dickman LT, Pangle R, Pockman WT. 2014. How do trees die? A test of the hydraulic failure and carbon starvation hypotheses. *Plant, Cell & Environment* 37: 153-161.
- Shapiro SS, Wilk MB. 1965. An analysis of variance test for normality. *Biometrika Trust* 52: 591-609.
- Shimazaki K, Doi M, Assmann SM, Kinoshita T. 2007. Light regulation of stomatal movement. Annual Review of Plant Biology 58: 219-247.
- Silveira M. 2005. A floresta aberta com bambu no sudoeste da Amazônia: padrões e processos em múltiplas escalas. Edufac, Rio Branco-AC.
- Silvertown J, Araya Y & Gowing D. 2015. Hydrological niches in terrestrial plant communities: A review. *Journal of Ecology* 103(1): 93-108.
- Smith AP, Hogan KP, Idol JR. 1992. Spatial and temporal patterns of light and canopy structure in a lowland tropical moist forest. *Biotropica* 24: 503–511.
- Smith DD, Sperry JS. 2014. Coordination between water transport capacity, biomass growth, metabolic scaling and species stature in co-occurring shrub and tree species. *Plant, Cell & Environment* 37: 2679-2690.
- Sombroek W. 2001. Spatial and temporal patterns of Amazon rainfall. Ambio 30: 388-396.
- Sperry JS, Donnelly JR, Tyree MT. 1988. A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant, Cell & Environment* 11: 35-45.
- Sperry JS, Hacke UG, Oren R, Comstock JP. 2002. Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant, Cell & Environment* 25: 251-263.
- Sperry JS, Hacke UG, Pittermann J. 2006. Size and function in conifer tracheids and angiosperm vessels. *American Journal of Botany* **93**: 1490-1500.
- Spiegel MP. 1976. Estatística. McGraw-Hill, São Paulo-SP, 580.
- Tardieu F, Simonneau T. 1998. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental* Botany 49: 419-432.
- Tyree MT, Dixon MA. 1986. Water stress induced cavitation and embolism in some woody plants. *Physiol Plant* 66: 397-405.
- Trenberth KE, Dai A, van der Schrier G, Jones PD, Barichivich J, Briffa KR, Sheffield J. 2014. Global warming and changes in drought. *Nature Climate Change* **4**: 17-22.
- Tyree MT, Sperry JS. 1988. Do woody plants operate near the point of catastrophic xylem dysfunction caused by dynamic water stress? Answers from a model. *Plant Physiology* 88: 574-580.

- Tyree MT, Sperry JS. 1989. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **40**: 19-36.
- Urli M, Porté AJ, Cochard H, Guengant Y, Burlett R, Delzon S. 2013. Xylem embolism threshold for catastrophic hydraulic failure in angiosperm trees. *Tree Physiology* **33**: 672-683.
- Vinya R, Malhi Y, Fisher JB, Brown N, Brodribb TJ & Aragão LE. 2013. Xylem cavitation vulnerability influences tree species' habitat preferences in miombo woodlands. *Oecologia* 173(3): 711-720.
- Wilcoxon F. 1945. Individual comparisons by ranking methods. *Biometrics Bulletin*, 1: 80-83.
- Williamson GB, Laurance WF, Oliveira AA, Delamonica P, Gascon C, Lovejoy TE, Pohl L. 2000. Amazonian tree mortality during the 1997 El Nino drought. *Conservation Biology* 14: 1538-1542.
- Willmer C, Fricker M. 1996. Stomata, ed 2. Chapman and Hall, London.
- Woodward FI, Kelly CK. 1995. The influence of CO2 concentration on stomatal density. *New Phytologist* 131: 311-327.
- Wright SJ, Kitajima K, Kraft NJB, Reich PB, Ian J, Bunker DE, Condit R, Dalling JW, Davies SJ, Díaz S, et al. 2010. Functional traits and the growth mortality trade-off in tropical trees. Ecology 91: 3664–3674.
- 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.
- Yang J, Tian H, Pan S, Chen G, Zhang B, Dangal, S. 2018. Amazon drought and forest response: Largely reduced forest photosynthesis but slightly increased canopy greenness during the extreme drought of 2015/2016. *Global Change Biology*. n/a-n/a.
- Yoder BJ, Ryan MG, Waring RH, Schoettle AW, Kaufmann MR. 1994. Evidence of reduced phothosynthetic rates in old trees. *Forest Science* 40: 513-527.
- Zeng N, Yoon J-H, Marengo JA, Subramaniam A, Nobre CA, Mariotti A, Neelin JD. 2008. Causes and impacts of the 2005 Amazon drought. *Environmental Research Letters* **3**: 1.
- Zeppel M, Logan BA, Lewis JD, Phillips NG, Tissue DT. 2013. Why lose water at night? Disentangling the mystery of nocturnal sap flow, transpiration and stomatal conductance -When, Where, Who? In IX International Workshop on Sap Flow 991:307-312.
- Zeppel MJ, Lewis JD, Chaszar B, Smith RA, Medlyn BE, Huxman TE, Tissue DT. 2012. Nocturnal stomatal conductance responses to rising [CO2], temperature and drought. *New Phytologist* 193: 929-938.
- 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.

- Zhang JL, Cao KF. 2009. Stem hydraulics mediates leaf water status, carbon gain, nutrient use efficiencies and plant growth rates across dipterocarp species. *Functional Ecology* 23: 658-667.
- Zhang Y, Lamarque LJ, Torres-Ruiz JM, Schuldt B, Karimi Z, Li S, Qin DW, Bittencourt P, Burlett R, Cao KF. 2018. Testing the plant pneumatic method to estimate xylem embolism resistance in stems of temperate trees. *Tree Physiol* 38: 1016–1025
- Zhang J, Schurr U, Davies WJ. 1987. Control of stomatal behavior by abscisic acidwhich apparently originate in the root. *Journal of Experimental Botany* 38: 1174-1181.
- Zhang YJ, Meinzer FC, Hao GY, Scholz FG, Bucci S, Takahashi F, Villalobos VR, Giraldo J, Cao KF, Hoffmann W, Goldstein G. 2009. Size-dependent mortality in a Neotropical savanna tree: the role of height-related adjustments in hydraulic architecture and carbon allocation. *Plant Cell Environ* 32: 1456-1466.

#### 7. Apêndice

Apêndice 1. Informações e normas para publicação do periódico científico escolhido para submissão do artigo proveniente desta dissertação.

Nome da revista: New Phytologist ISSN: 1469-8137 Fator de impacto: (2018/2019): 7,299 Classificação Qualis/Capes em Biodiversidade: A1. Link para acesso às normas da revista: (https://nph.onlinelibrary.wiley.com/hub/journal/14698137/about/author-guidelines).