

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS
UNIFAL- MG

GABRIELE MARQUES LEME

**RESPOSTA ANATÔMICA E FISIOLÓGICA DE FOLHAS DE *OCOTEA*
ODORIFERA (VELL.) ROHWER (LAURACEAE) SOB GRADIENTE DE ESTRESSE
LUMINOSO**

Alfenas/MG

2015

GABRIELE MARQUES LEME

**RESPOSTA ANATÔMICA E FISIOLÓGICA DE FOLHAS DE *OCOTEA*
ODORIFERA (VELL.) ROHWER (LAURACEAE) SOB GRADIENTE DE ESTRESSE
LUMINOSO**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Tecnologia Ambiental pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Meio Ambiente, Sociedade e Diversidade Biológica.

Orientador: Marcelo Polo

Coorientador: Flavio Nunes Ramos

Alfenas/MG

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

Biblioteca Central da Universidade Federal de Alfenas

Leme, Gabriele Marques

Resposta anatômica e fisiológica de folhas de *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer (Lauraceae) sob gradiente de estresse luminoso. / Gabriele Marques Leme. -- Alfenas/MG, 2015.
46 f.

Orientador: Marcelo Polo.

Dissertação (Mestrado em Ecologia e Tecnologia Ambiental) -
Universidade Federal de Alfenas, 2015.
Bibliografia.

1. Aclimação (Plantas). 2. Fotossíntese. 3. Árvores--Fisiologia. 4. Anatomia vegetal. 5. Pastagens I. Polo, Marcelo. II. Título.

CDD-581

GABRIELE MARQUES LEME

**RESPOSTA ANATÔMICA E FISIOLÓGICA DE FOLHAS DE OCOTEA
ODORIFERA (VELL.) ROHWER (LAURACEAE) SOB GRADIENTE DE ESTRESSE
LUMINOSO**

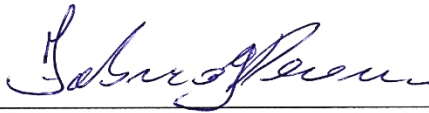
A Banca examinadora abaixo-assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Tecnologia Ambiental pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Meio Ambiente, Sociedade e Diversidade Biológica.

Aprovado em: 10 de abril de 2015.

Prof. Dr. Marcelo Polo
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

Prof. Dr. Fabrício José Pereira
Instituição: UFLA

Assinatura: 

Prof. Dr. João Paulo Rodrigues Alves
Delfino Barbosa
Instituição: UFLA

Assinatura: 

Aos meus pais, Eliana e Edson, pela
educação, carinho, incentivo, e por
acreditarem em mim, dedico.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Marcelo Polo, pela orientação, apoio e paciência em todas as etapas do trabalho, e pela confiança depositada em mim.

Ao Prof. Dr. Flavio Nunes Ramos, pela coorientação, pelas valiosas sugestões e por sempre enxergar as entrelinhas. Gratidão.

À Universidade Federal de Alfenas-MG pela oportunidade e à CAPES pela concessão da bolsa de estudos.

Ao Prof. Dr. Fabricio José Pereira, por gentilmente disponibilizar o uso do Laboratório de Anatomia Vegetal e os materiais necessários para as análises de anatomia foliar.

Aos companheiros de luta durante os trabalhos de campo, Dudu, Negão e Gá. Obrigado pelas risadas e por tornarem tudo mais divertido. Sem vocês este trabalho não seria possível.

À minha amiga e companheira de mestrado, Tamires Gonçalves, pela amizade, pelas conversas até altas da madrugada, e pela ajuda mútua em várias situações.

À secretária do Programa, Janaina, por sempre atender os alunos com bom humor e disposição.

A todos que contribuíram de alguma forma para o andamento e conclusão deste trabalho. Muito obrigada!

“Tudo isso é uma questão de saber.
Saber viver...
Tudo isso é uma questão de amar.
Pra entender...
Tudo isso é uma questão de querer.
Reconhecer...
Que quem sabe tudo nada há de ser,
nesse compasso há espaço pra quem
quiser viver.
Muito obrigado! Muito obrigado!
Muito obrigado, por tudo que eu tenho
passado...”

(Djavan)

RESUMO

O potencial de aclimação fotossintética das plantas pode ser um fator determinante na sua ocorrência e permanência em ambientes heterogêneos quanto à irradiância. Este trabalho teve como objetivo verificar respostas anatômicas e fisiológicas de indivíduos adultos de *Ocotea odorifera* sob diferentes regimes de luz, a fim de verificar seu potencial de aclimação. Foram coletados dados em fragmentos florestais circundados por matrizes de pasto, no município de Alfenas-MG. Foram analisadas as trocas gasosas realizadas pelas folhas de indivíduos de *O. odorifera* (espécie arbórea florestal tolerante à sombra) em três habitats distintos que oferecem diferentes condições de irradiância: interior do fragmento, borda florestal e a matriz de pasto circundante, sendo que as folhas foram distinguidas em folha de sol e folhas de sombra. Para caracterizar os três ambientes, foram coletados dados microclimáticos referentes às estações seca e chuvosa, como, temperatura do ar, temperatura do solo e radiação solar. Além disso, também foram feitas análises de variáveis anatômicas e morfológicas das folhas. Observou-se variações entre os três ambientes estudados e entre os tipos de folhas. As folhas de sol exibiram os maiores valores de fotossíntese, condutância estomática, taxa de transpiração, densidade estomática, espessuras das epidermes inferior e superior, do parênquima paliçádico e espessura total da lâmina foliar do que as folhas de sombra. Enquanto que as últimas apresentaram os maiores valores de concentração de carbono interno, espessura do parênquima esponjoso e área foliar. Os resultados obtidos indicam que os indivíduos de *O. odorifera* apresentam significativo potencial de aclimação fotossintética em ambientes com elevada radiação, pois mantém altas taxas fotossintéticas, apesar de a espécie ser secundária tardia e tolerante à sombra.

Palavras-chave: Fragmentos florestais. Matriz de pasto. Trocas gasosas. Aclimação.

ABSTRACT

The potential for photosynthetic acclimation of plant species can be a determining factor in its occurrence and permanence in heterogeneous light environments. This study aimed to verify anatomical and physiological responses of *Ocotea odorifera* adults under different light regimes in order to verify their potential for acclimation. The data collection were carried out in forest fragments surrounded by pasture, in the city of Alfenas-MG. Gas exchanges of *O. odorifera* leaves (forest tree species shade tolerant) were analyzed in three distinct habitats with different irradiance conditions: the forest interior, the forest edge and the surrounding pasture matrix, and that leaves were distinguished in sun and shade leaves. Microclimatic data, such as air temperature, soil temperature and solar radiation, were measured to characterize the three environments. Analysis of anatomical and morphological variables from leaves were also realized. There was changes between the three environments and between the leaf types. Sun leaves exhibited higher values of photosynthesis, stomatal conductance, transpiration rate, stomatal density, abaxial and adaxial epidermis thickness, palisade parenchyma and total lamina thickness, than shade leaves. While the latter showed the highest values of intercellular carbon dioxide concentration, spongy parenchyma thickness and leaf area. The results indicate that *O. odorifera* individuals have high potential for photosynthetic acclimation in high light environments, since keeps high photosynthetic rates, even though the species is late secondary and shade tolerant.

Keywords: Forest fragments. Pasture matrix. Gas exchange. Acclimation.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	9
2	RADIAÇÃO SOLAR	10
2.1	AMBIENTES HETEROGÊNEOS QUANTO À DISPONIBILIDADE DE LUZ	10
3	RESPOSTAS DAS PLANTAS A DIFERENTES CONDIÇÕES DE RADIAÇÃO SOLAR	11
3.1	CRESCIMENTO E MORFOLOGIA DA PLANTA	12
3.2	RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E ANATÔMICAS DAS FOLHAS.....	12
4	PLASTICIDADE FENOTÍPICA E ESTRATÉGIAS ADAPTATIVAS	14
5	CONSIDERAÇÕES SOBRE <i>OCOTEA ODORIFERA</i> (VELL.) ROHWER ...	15
6	JUSTIFICATIVA	16
7	OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS	17
	REFERÊNCIAS	18
	ARTIGO: THE LEAF MORPHOLOGICAL RESPONSES AND PHOTOSYNTHETIC PERFORMANCE OF <i>OCOTEA ODORIFERA</i> (VELL.) ROHWER (LAURACEAE) TO DIFFERENT RADIATION AVAILABILITY.	27
	Abstract	28
	Introduction	29
	Materials and methods	30
	<i>Tree species and study sites</i>	30
	<i>Microclimatic data</i>	31
	<i>Gas exchange measurements</i>	31
	<i>Leaf quantitative anatomy</i>	32
	<i>Statistical analysis</i>	33
	Results	33
	<i>Microclimatic data</i>	33
	<i>Gas exchange parameters in both rainy and dry season</i>	33
	<i>Anatomical leaf measurements</i>	34
	Discussion	34
	Conclusion	36
	Funding	36
	Acknowledgements	36
	Conflict of interest	36
	References	37

1 INTRODUÇÃO

As plantas podem responder de diferentes maneiras quanto ao seu metabolismo, quando submetidas a estresses ambientais, como, por exemplo, a intensidade de radiação, a qual é considerada um dos fatores mais limitantes ao crescimento, desenvolvimento e estabelecimento de espécies arbóreas em florestas tropicais (LAMBERS et al., 2008). Dentre as principais mudanças que ocorrem nas plantas, em função do ambiente, podemos citar as alterações no aparato fotossintético. Uma vez que a fotossíntese está diretamente relacionada à quantidade de luz que chega até as folhas, e as mudanças no regime de luz podem conduzir a “ajustes” nas estruturas foliares a fim de garantir uma maior eficiência fotossintética (TERASHIMA et al., 2011). Estes ajustes ocorrem no sentido de minimizar efeitos que possivelmente possam causar danos às folhas, garantindo, assim, seu funcionamento em condições adversas (YAMASHITA et al., 2000).

Características foliares tais como, espessura da epiderme das faces adaxial e abaxial, espessura do parênquima clorofiliano, densidade estomática e parâmetros de trocas gasosas, como, taxa de fotossíntese líquida, transpiração, condutância estomática, dentre outros, tem sido utilizados para caracterizar espécies vegetais sob diferentes condições de radiação (PERI et al., 2011; RIAÑO; BRIONES, 2013; TOSENS et al., 2012). E estas características podem ser importantes nos mecanismos de aclimação da planta (CRAVEN; GULAMHUSSEIN; BERLYN, 2010).

Portanto, investigar as respostas anatômicas e fisiológicas de espécies arbóreas quanto a diferentes regimes de luz torna-se extremamente importante, posto que, além de fornecer informações sobre o quadro atual destas espécies em seu ambiente, propiciará uma melhor compreensão quanto às suas evoluções e adaptações, podendo indicar quais espécies podem ou não serem relevantes para o uso em programas de restauração. Assim, será possível fornecer subsídios para uma melhor gestão de espécies arbóreas em paisagens fragmentadas e para o planejamento de ações que visem contribuir com a conservação da biodiversidade nessas paisagens.

2 RADIAÇÃO SOLAR

A luz é essencial às plantas (FUKUDA et al., 2008), sendo considerada um dos fatores mais limitantes no estabelecimento e crescimento de espécies arbóreas em florestas tropicais (CHANG; ALDERSON; WRIGHT, 2008; LAMBERS et al., 2008). Isto, conseqüentemente, afeta a distribuição (WAGNER et al., 2008), e capacidade de sobrevivência das espécies vegetais a diferentes níveis de radiação solar.

As florestas tropicais, por exemplo, constituem um ambiente extremamente heterogêneo, no que tange à disponibilidade de luz, uma vez que fatores como, ritmo circadiano (período do dia), sazonalidade e estrutura da vegetação, podem alterar a intensidade e a qualidade de luz disponível (GENTY; HARBISON, 1996).

2.1 AMBIENTES HETEROGÊNEOS QUANTO À DISPONIBILIDADE DE LUZ

A paisagem fragmentada pode ser distinta em diferentes habitats de acordo com o grau de luminosidade, como o interior florestal, a borda florestal e a matriz circundante, sendo que o uso destas designações pode ser arbitrário. O interior florestal é considerado a área pouco afetada pela borda florestal, possui microclima mais ameno, com menor intensidade de radiação solar, menores valores de temperatura do ar (DIDHAM; EWERS, 2014), e maior umidade do ar do que a borda florestal e a matriz (MOSQUERA; MARTÍNEZ; FIGUEROA, 2014). A borda florestal, por sua vez, é formada a partir da sobreposição de dois ecossistemas adjacentes, o natural, representado pelo remanescente florestal, e o alterado, representado pela matriz antrópica (PRIMACK, 2008).

Estudos sobre fragmentação florestal têm demonstrado que as bordas dos fragmentos se distinguem do seu interior quanto à composição e estrutura da vegetação, sendo que isto se deve principalmente aos chamados efeitos de borda ocasionados pelo tipo de matriz adjacente (DAMBROS et al., 2013; LAURANCE; VASCONCELOS, 2009). Normalmente os efeitos de borda são menos acentuados quando a matriz possui estrutura da vegetação similar à do fragmento (DENYER; BURNS; OGDEN, 2006), sendo que a matriz influencia significativamente no

microclima da borda florestal (HEITHECKER; HALPPERN, 2007) e, conseqüentemente, do fragmento como um todo (PINTO et al., 2010).

A matriz é um componente muito importante no contexto da paisagem (LAURANCE, 2008), atuando no funcionamento e na sobrevivência do sistema florestal. O tipo de matriz circundante a um fragmento florestal atua de forma significativa sobre a biodiversidade, os serviços ecossistêmicos (PREVEDELLO; VIEIRA, 2010), as interações entre as espécies, e a disponibilidade de recursos (FRANKLIN; LINDENMAYER, 2009), o que, por sua vez, acaba refletindo na composição e estrutura da vegetação do remanescente (LAURANCE et al., 2006; TABARELLI et al., 2008).

Em paisagens fragmentadas dominadas por matrizes abertas, os efeitos de borda são intensificados, devido ao alto grau de contraste entre a estrutura da vegetação da matriz e do fragmento florestal (LAURANCE, 2008). A matriz de pasto, por exemplo, possui um microclima mais severo, em virtude da baixa complexidade estrutural de sua vegetação (LAURANCE, 2004). Por conseguinte, o microclima da borda florestal tende a ser diferente do interior do fragmento (DIDHAM; LAWTON, 1999), visto que existe uma maior penetração lateral de luz solar e de vento, o que por sua vez, pode aumentar a irradiância no chão. Como resultado há uma redução na humidade e um aumento nas temperaturas (CIENCIALA et al., 2002) nas bordas.

3 RESPOSTAS DAS PLANTAS A DIFERENTES CONDIÇÕES DE RADIAÇÃO SOLAR

A quantidade de luz determina a resposta fotossintética das folhas (LARCHER, 2000), sendo que uma maior disponibilidade de luz em um ambiente pode promover tanto a intensificação da taxa fotossintética, quanto a redução da mesma através da fotoinibição, o que vai depender de espécie para espécie (VIEIRA et al., 2012). E as modificações na intensidade de radiação podem acarretar diferentes respostas fisiológicas, anatômicas e bioquímicas das plantas.

Além de fornecer energia para o processo de fotossíntese, a luz também regula o desenvolvimento vegetal a partir da síntese de carboidratos resultante desse processo. Por conseguinte, quando há redução da taxa fotossintética, o crescimento

e o desenvolvimento, bem como as reservas de carboidratos e a partição de biomassa para os órgãos da planta são afetados (RIBEIRO; MACHADO, 2007).

3.1 CRESCIMENTO E MORFOLOGIA DA PLANTA

As variações na radiação solar exercem um papel importante sobre o crescimento da planta, este, o qual, está diretamente relacionado ao acúmulo de matéria seca, e, conseqüentemente, condicionado ao processo de fotossíntese (LARCHER, 2000). Maiores intensidades de radiação implicam em maiores taxas fotossintéticas por unidade de área foliar, bem como maiores taxas de absorção de água e necessidade de nutrientes, o que, por sua vez, leva a um acréscimo de matéria seca para o sistema radicular (KWAK; LEE; WOO, 2011).

Em contrapartida, as plantas transferem uma maior alocação de biomassa para a parte aérea em ambientes sombreados, havendo um aumento da área foliar (LEE et al., 2000), e um maior estímulo de crescimento em altura (OLIVEIRA; ARAÚJO; GUERRA, 2011). Essas modificações nas razões entre a massa e a área foliar são mecanismos adaptativos de espécies de sombra, que ocorrem no sentido de alcançar um equilíbrio por meio do incremento da captura de luz que possa estar limitando o crescimento, proporcionando, assim, uma absorção mais eficaz da luz (POORTER et al., 2012). O aumento da área foliar, da área foliar específica e da razão área foliar são respostas comumente relatadas para espécies vegetais sob condições de sombreamento (KELLY et al., 2009; FINI et al., 2010).

3.2 RESPOSTAS FISIOLÓGICAS E ANATÔMICAS DAS FOLHAS

O conhecimento sobre a morfologia, anatomia e fisiologia das plantas pode fornecer informações muito importantes sobre os ajustes que ocorrem em função de fatores ambientais (CUTLER et al., 2011). As folhas de uma planta são consideradas o principal órgão do processo de fotossíntese e, anatomicamente, o mais variável, visto que estão sempre interagindo com as condições ambientais ao seu redor.

Portanto, as folhas representam os órgãos mais sensíveis e com maior capacidade plástica em relação ao ambiente. Diante disto, estudos sobre atributos foliares que possam indicar o desempenho da planta em seu ambiente, bem como sua capacidade de aclimação a diferentes recursos, tornam-se essenciais para entendermos as funções ecológicas e a distribuição das plantas.

Em resposta às mudanças na disponibilidade de luz as folhas das plantas se diferenciam em folhas de sol e folhas de sombra (MURCHIE; HORTON, 1997). As folhas de sol apresentam maior capacidade fotossintética, e isto se deve, principalmente, à maior quantidade da enzima ribulose 1,5-bifosfato carboxilase/oxigenase (Rubisco), à maior expansão do complexo coletor de luz do fotossistema II (HIKOSAKA; TERASHIMA, 1995), e à maior condutância estomática concomitante à maior densidade estomática, o que maximiza a absorção de CO₂ (SACK et al., 2006). Devido também à formação de folhas mais espessas (ROSSATO; KOLB, 2010; SABBI; ÂNGELO; BOEGER, 2010) e a um considerável investimento de nitrogênio na síntese de enzimas fotossintéticas (BJÖRKMAN, 1981; VON CAEMMERER; FARQUHAR, 1981). Tais folhas permitem um número elevado de cloroplastos nas células do parênquima clorofiliano, pois os cloroplastos contêm as enzimas que atuam na fotossíntese (OGUCHI; HIKOSAKA; HIROSE, 2003). Além disso, folhas de sol tendem a ser menores a fim de evitar o superaquecimento (BONGERS; POPMA, 1988). Em relação aos ajustes fisiológicos observados em folhas expostas a elevada radiação, estes ocorrem a fim de minimizar os possíveis efeitos da fotoinibição, a qual pode ocasionar danos aos fotossistemas das folhas (YAMASHITA et al., 2000).

Quanto às folhas de sombra, para maximizar a eficiência na captura de luz elas aumentam sua área foliar (EVANS; POORTER, 2001) e investem mais nitrogênio em clorofila, o que lhes confere maior rendimento total (VALLADARES; NIINEMETS, 2008). A área foliar é considerada uma variável altamente plástica e extremamente dependente da condição de luminosidade (DAHLGREN et al., 2006). Maiores valores de área foliar encontrados em folhas de sombra demonstram um menor investimento na espessura e lignificação de tecidos (ROSSATTO et al., 2010), portanto as folhas são mais finas (ROZENDAAL; HURTADO; POORTER, 2006) do que as folhas de sol. Contudo, as folhas de sombra, por serem mais competitivas à luz, devido à sua maior área foliar, podem ter uma baixa resistência ao estresse provocado por um aumento

da radiação solar (REICH et al., 1995), o que a torna mais susceptível à fotoinibição (KITAO et al., 2000).

O conhecimento sobre os efeitos da radiação no processo fotossintético e as respostas das plantas à variação das condições do ambiente, pode garantir a sobrevivência e o desenvolvimento adequado das plantas.

4 PLASTICIDADE FENOTÍPICA E ESTRATÉGIAS ADAPTATIVAS

Com base no conhecimento de como as plantas interagem com seu ambiente, sabe-se que elas crescem sob uma série de condições ambientais e que elas desenvolvem alguns métodos de respostas, ou ajustes, para se adequarem a essas condições. A capacidade de se ajustarem a tais condições ocorre por meio da flexibilidade de fenótipos, conhecida como plasticidade fenotípica, a qual pode ser expressa pelo processo de aclimação (CHAMBEL et al., 2005).

De acordo com Searle et al. (2011), muitas plantas desenvolvem a capacidade de se aclimatarem às variações de luminosidade, ajustando seu aparato fotossintético para se adequarem às condições, visto que a luz proveniente da radiação solar é indispensável aos processos fisiológicos da planta, e reflete na sua manutenção homeostática. Dentre os ajustes que ocorrem podemos citar, alterações na espessura da lâmina foliar (MISHIO; NAKAKUBO, 2014) e na proporção de tecidos fotossintetizantes e não fotossintetizantes (RABELO et al., 2013); alteração na composição de pigmentos fotossintéticos (LAGE-PINTO et al., 2012; VIEIRA et al., 2012); na densidade, mobilidade e tamanho dos estômatos (DRAKE; FROEND; FRANKS, 2013); e na capacidade fotossintética (PORTES et al., 2010).

A aclimação à luz ocorre com o intuito de maximizar os processos metabólicos e garantir o crescimento (SIMS; PEARCY, 1994), desenvolvimento, sobrevivência (STERCK et al., 2005), e até mesmo o valor adaptativo da planta (ATHANASIOU et al., 2010). Acredita-se que a capacidade de a planta realizar ajustes em seu aparato fotossintético pode aumentar as taxas de crescimento das plântulas e aumentar a competitividade com indivíduos vizinhos, o que propiciará vantagens competitivas à espécie em ambientes muito heterogêneos e em constante mudança, permitindo assim uma melhor utilização da luz disponível (ATHANASIOU et al., 2010;

SOUZA et al., 2008). Assim, estas plantas que possuem a capacidade de se aclimatarem são mais susceptíveis a sobreviverem com sucesso em ambientes mais severos (CARDOSO; LOMÔNACO, 2003). Por conseguinte, o grau de plasticidade na utilização da luz no processo fotossintético é um fator determinante na distribuição das espécies vegetais em ambientes heterogêneos, como as florestas tropicais (VIEIRA et al., 2012).

Embora a capacidade de aclimação seja espécie-específica, ou seja, depende de espécie para espécie, as plantas de habitats mais abertos, como as pastagens, tendem a ter respostas plásticas mais rápidas quanto à aclimação às mudanças ambientais (PORTES et al., 2010). E esta habilidade de tolerar condições de elevada radiação pode ser uma característica muito importante durante a escolha de espécies para programas de restauração, pois podemos assumir que estas espécies tem uma vantagem seletiva em habitats com uma maior frequência de distúrbios.

5 CONSIDERAÇÕES SOBRE OCOTEA ODORIFERA (VELL.) ROHWER

Ocotea odorifera, conhecida popularmente como sassafrás ou canela-sassafrás, é uma importante espécie arbórea representante da família Lauraceae, nativa do Brasil e naturalmente encontrada nos domínios do bioma Mata Atlântica, desde o Estado do Rio Grande do Sul até a Bahia (QUINET et al., 2015). Seus indivíduos chegam a alcançar até 17 m de altura (CARVALHO, 2005), e o período reprodutivo é alcançado somente após, pelo menos, 25 anos de idade. A dispersão de sementes é realizada principalmente por pássaros (CARVALHO, 2005), e o estabelecimento das plântulas é favorecido em ambientes sombreados, sendo que a taxa de crescimento é muito lenta (REITZ; KLEIN; REIS, 1978).

Possui elevado valor comercial, devido, principalmente, à qualidade de sua madeira e também de seus componentes oleosos, dentre os quais se destaca o safrol (MOSSI et al., 2013), o qual foi muito exportado para países como, Japão, Estados Unidos da América e países da Europa (OLTRAMARI et al., 2001). É também fitoquimicamente reconhecida pela presença de flavonoides, como o canferol e a quercetina, polipropanoides, esteroides e sesquiterpenos (COSTA, 2000; LORDELLO

et al., 2000). A madeira da *O. odorifera* possui propriedades que a permitem ser usada na marcenaria, construções civil e naval. Quanto ao óleo essencial safrol, este foi muito utilizado na fabricação de inseticidas e repelentes biodegradáveis (MOSSI et al., 2013), além de cosméticos e fármacos (LORENZI; MATOS, 2002). Ademais, dentre os vários componentes presentes na espécie, a mesma exerce propriedades alelopáticas que influenciam na germinabilidade de sementes, podendo levar à supressão de indivíduos que venham a se estabelecer ao seu redor (CARMO; BORGES; TAKAKI, 2007), sendo comprovado que a diversidade de espécies sob a copa de indivíduos de *O. odorifera* é extremamente baixa (CETNARSKI FILHO; NOGUEIRA, 2005).

Como resultado à exploração indiscriminada de inúmeras espécies florestais concomitante à intensa devastação da Mata Atlântica nas últimas décadas, várias espécies foram prejudicadas, incluindo a canela-sassafrás, a qual foi incluída na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas de Extinção (MMA, 2008) e sendo classificada como vulnerável pela lista vermelha da IUCN (VARTY, 1998) e como ameaçada pelo Livro Vermelho da Flora Brasileira (MARTINELLI; MORAES, 2013). Esta espécie tornou-se ameaçada em consequência da depleção de seu estoque genético, sendo que a viabilidade das sementes no campo é deficiente e sensível às condições de armazenamento (OLTRAMARI et al., 2004). Isto leva a populações cada vez mais isoladas, o que acaba prejudicando as relações mutualísticas com polinizadores e dispersores. Assim, estudos que ajudem a aumentar o conhecimento acerca desta espécie podem ajudar em sua conservação.

6 JUSTIFICATIVA

Na literatura, são encontrados muitos estudos que analisam as respostas fisiológicas e morfológicas de espécies vegetais quanto às alterações ambientais a que estão submetidas no campo (por exemplo, DOMINGUES; MARTINELLI; EHLERINGER, 2007; HALLIK; NIINEMETS; KULL, 2012; SENDALL; REICH, 2013; SOUZA et al., 2010). Contudo, não há estudos que investigam essas diferentes respostas de espécies arbóreas florestais, que ocorrem simultaneamente em diferentes ambientes heterogêneos quanto à intensidade de radiação, em suas

condições naturais no campo. É o caso, por exemplo, da espécie *Ocotea odorifera* (sassafrás), a qual ocorre naturalmente em ecossistemas florestais (borda e interior) e em ecossistema de pasto. Todavia, não há estudos sobre as respostas morfofisiológicas desta espécie em diferentes condições de radiação.

Diante disto, este estudo possibilitou uma melhor compreensão a respeito desta espécie, permitindo um melhor entendimento das possíveis alterações em seus parâmetros ecofisiológicos e morfológicos desencadeadas pela matriz de pasto. Sendo de fundamental importância, dado que visa contribuir com informações originais nunca antes publicadas acerca dessas árvores, além de fornecer subsídios para a incorporação em programas de conservação da biodiversidade em paisagens agrícolas fragmentadas, bem como o uso da espécie em programas de restauração em áreas degradadas.

7 OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS

O objetivo geral foi responder a seguinte pergunta: respostas fisiológicas e anatômicas das folhas de espécies arbóreas florestais diferem de acordo com as condições de radiação dos fragmentos e da matriz de pasto circundante?

Mais precisamente, verificar a relação entre o tipo de habitat luminoso e as variáveis de trocas gasosas: (i) Fotossíntese; (ii) Condutância estomática; (iii) Transpiração; e (iv) Concentração de carbono interno. Verificar a relação entre o tipo de habitat luminoso e as variáveis de anatomia foliar: (i) Espessura da epiderme da face adaxial; (ii) Espessura da epiderme da face abaxial; (iii) Espessura do mesófilo; (iv) Espessura total da folha; (v) Área foliar; e (vi) Densidade estomática. E analisar as diferenças entre folhas de sol e folhas de sombra.

REFERÊNCIAS

ATHANASIOU, K. et al. Dynamic Acclimation of photosynthesis increases plant fitness in changing environments. **Plant Physiology**, v. 152, p. 336-373, 2010.

BJÖRKMAN, O. Responses to different quantum flux densities. In LANGE, O.; NOBEL, P. S.; OSMOND, C. B.; ZEIGLER, H. (eds.) **Encyclopedia of plant physiology** N. S., Volume 12A. Springer-Verlag, New York, p. 57-107, 1981.

BONGERS, F.; POPMA, J. Is exposure-related variation in leaf characteristics of tropical rain forest species adaptive? In: WERGER, M. J. A.; VAN DER AART, P. J. M.; DURING, H. J.; VERHOEVEN, J. T. A. (eds) **Plant form and vegetation structure**. SPB, The Hague, p. 191–200, 1988.

CARDOSO, G. L.; LOMÔNACO, C. Variações fenotípicas e potencial plástico de *Eugenia calycina* Cambess.(Myrtaceae) em uma área de transição cerrado-vereda. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 1, p. 131-140, 2003.

CARMO, F. M. S.; BORGES, E. E. L.; TAKAKI, M. Alelopatia de extratos aquosos de canela-sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer). **Acta Botanica Brasilica**, p. 697-705, 2007.

CARVALHO, F. A. **Efeitos da fragmentação florestal na florística e estrutura de fragmentos de Mata Atlântica submontana na região de Imbaú, município de Silva Jardim, RJ**. 2005. 124f. Dissertação (Mestrado em Biociências e Biotecnologia) Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, 2005.

CETNARSKI, F. R.; NOGUEIRA, A. C. Influência da temperatura na germinação de diásporos de *Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer (canela-sassafrás). **Ciência Florestal**, v. 5, p. 191-198, 2005.

CHAMBEL, M. R. et al. Phenotypic plasticity: a useful framework for understanding adaptation in forest species. **Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales**, v. 14, n. 3, p. 334-344, 2005.

CHANG, X.; ALDERSON, P. G.; WRIGHT, C. J. Solar irradiance level alters the growth of basil (*Ocimum basilicum* L.) and its content of volatile oils. **Environmental and Experimental Botany**, v. 63, n. 1, p. 216-223, 2008.

CIENCIALA, E. et al. The effect of a north-facing forest edge on tree water use in a boreal Scots pine stand. **Canadian Journal of Forest Research**, v. 32, n. 4, 693–702, 2002.

COSTA, P. R. R. Safrol e eugenol: estudo da reatividade química e uso em síntese de produtos naturais biologicamente ativos e seus derivados. **Química Nova**, v. 23, p. 357-360, 2000.

CRAVEN, D.; GULAMHUSSEIN, S.; BERLYN, G. P. Physiological and anatomical responses of *Acacia koa* (Gray) seedlings to varying light and drought conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v. 60, p. 205-213, 2010.

CUTLER, D. F.; BOTHA, T.; STEVENSON, D. W. **Anatomia Vegetal: uma abordagem aplicada**. Artmed. 2011.

DAHLGREN, J.P. et al. Specific leaf area as a superior predictor of changes in field layer abundance during forest succession. **Journal of Vegetation Science**, v. 17, p. 577-582, 2006.

DAMBROS, C. S.; SILVA, V. N. V.; AZEVEDO, R.; MORAIS, J. W. Road-associated edge effects in Amazonia change termite community composition by modifying environmental conditions. **Journal for Nature Conservation**, v. 21, p. 279-285, 2013.

DENYER, K.; BURNS, B.; OGDEN, J. Buffering of native forest edge microclimate by adjoining tree plantations. **Austral Ecology**, v. 31, n. 4, p. 478–489, 2006.

DIDHAM, R. K.; EWERS, R. M. Edge Effects Disrupt Vertical Stratification of Microclimate in a Temperate Forest Canopy 1. **Pacific Science**, v. 68, n. 4, p. 493-508, 2014.

DIDHAM, R. K.; LAWTON, J. H. Edge structure determines the magnitude of changes in microclimate and vegetation structure in tropical forest fragments. **Biotropica**, v. 31, p. 17–30, 1999.

DOMINGUES, T. F.; MARTINELLI, L. A.; EHLERINGER, J. R. Ecophysiological traits of plant functional groups in forest and pasture ecosystems from eastern Amazonia, Brazil. **Plant Ecology**, v. 193, p. 101-112, 2007.

DRAKE, P. L.; FROEND, R. H.; FRANKS, P. J. Smaller, faster stomata: scaling of stomatal size, rate of response, and stomatal conductance. **Journal of Experimental Botany**, v. 64, n. 2, p. 495-505, 2013.

EVANS, J. R.; POORTER, H. Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. **Plant Cell and Environment**, v. 24, p. 755–767, 2001.

FINI, A. et al. Growth, leaf gas exchange and leaf anatomy of three ornamental shrubs grown under different light intensities. **Europ. J. Hort. Sci**, v. 75, n. 3, p. 111-117, 2010.

FRANKLIN, J. F.; LINDENMAYER, D. B. Importance of matrix habitats in maintaining biological diversity. **PNAS**, v. 106, p. 349-350, 2009.

FUKUDA, N. et al. Directional blue light irradiation triggers epidermal cell elongation of abaxial side resulting in inhibition of leaf epinasty in geranium under red light condition. **Scientia Horticulturae**, v. 115, p. 176-182, 2008.

GENTY, B.; HARBINSON, J. Regulation of light utilization for photosynthetic electron transport. *In*: Baker NR, ed. **Photosynthesis and the environment**. Kluwer Academic Publications. p. 67-99, 1996.

HALLIK, L.; NIINEMETS, Ü.; KULL, O. Photosynthetic acclimation to light in woody and herbaceous species: a comparison of leaf structure, pigment content and chlorophyll fluorescence characteristics measured in the field. **Plant Biology**, v. 14, n. 1, p. 88-99, 2012.

HEITHECKER, T.D.; HALPERN, C.B. Edge-related gradients in microclimate forest aggregates following structural retention harvests in western Washington. **Forest Ecology and Management**, v. 248, n. 3, p. 163-173, 2007.

HIKOSAKA, K.; TERASHIMA, I. A model of the acclimation of photosynthesis in the leaves of C3 plants to sun and shade with respect to nitrogen use. **Plant, Cell & Environment**, v. 18, n. 6, p. 605-618, 1995.

KELLY, J. et al. Growth and physiological response of six Australian rainforest tree species to a light gradient. **Forest Ecology and Management**, v. 257, n. 1, p. 287-293, 2009.

KITAO, M. et al. Susceptibility to photoinhibition of three deciduous broadleaf tree species with different successional traits raised under various light regimes. **Plant, Cell and Environment**, v. 23, p. 81-89, 2000.

KUPFER, J. A.; MALANSON, G. P.; FRANKLIN, S. B. Not seeing the ocean for islands: the mediating influence of matrix -based processes on forest fragmentation effects. **Global Ecology and Biogeography**, v. 15, p. 8-20, 2006.

KWAK, M. J.; LEE, S. H.; WOO, S. Y. Growth and anatomical characteristics of different water and light intensities on cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings. **African Journal of Biotechnology**, v. 10, n. 53, p. 10964-10979, 2011.

LAMBERS, H.; CHAPIN, F. S.; PONS, T. L. **Plant physiological ecology**. New York: Springer. 2008.

LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Editora Rima, 2000. p. 531

LAURANCE, W. F. et al. Rain forest fragmentation and the proliferation of successional trees. **Ecology**, v. 87, n. 2, p. 469–482, 2006.

LAURANCE, W. F. Forest-climate interactions in fragmented tropical landscapes. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences**, v. 359, n. 1443, p. 345-352, 2004.

LAURANCE, W. F. Theory meets reality: How habitat fragmentation research has transcended island biogeographic theory. **Biological Conservation**, v. 141, n. 7, p. 1731-1744, 2008.

LAURANCE, W. F.; VASCONCELOS, H. L. Consequências ecológicas da fragmentação florestal na Amazônia. **Oecologia Brasiliensis**, v. 13, p. 434-451, 2009.

LEE, D. W. et al. Effects of irradiance and spectral quality on leaf structure and function in seedlings of two Southeast Asian Hopea (Dipterocarpaceae) species. **American Journal of Botany**, v. 87, n. 4, p. 447-455, 2000.

LORDELLO, A. L. L. et al. Phenylpropanoids, sterols and sesquiterpene from wood of *Ocotea odorifera* Lauraceae. **Revista Latinoamericana de Química**, v. 28, p. 35-39, 2000.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. São Paulo: Instituto Plantarum, 2002.

MARTINELLI, G.; MORAES, M. S. **Livro Vermelho da Flora do Brasil** [Red book of Brazilian Flora]. Rio de Janeiro, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico, 2013.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE - INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 06, DE 23 DE SETEMBRO DE 2008 (Lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção). 2008.

MISHIO, M.; KAWAKUBO, N. Variations in leaf morpho-anatomy and photosynthetic traits between sun and shade populations of *Eurya japonica* (Pentaphylacaceae) whose seeds are dispersed by birds across habitats. **Plant Species Biology**, v. 30, n. 2, p. 147-158 2014.

MOSQUERA, A. M.; MARTÍNEZ, J. P.; FIGUEROA, A. Microclimatic gradients in transition zones of Andean forest: A case study of Purace National Park. **Scientific Research and Essays**, v. 9, n. 16, p. 703-715, 2014.

MOSSI, A. J. et al. Essential oil of *Ocotea odorifera*: An alternative against *Sitophilus zeamais*. **Renewable Agriculture and Food Systems**, p. 1-6, 2013.

MURCHIE, E. H.; HORTON, P. Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: chlorophyll content, photosynthetic capacity and habitat preference. **Plant Cell and Environment**, v. 20, p. 438-448, 1997.

OGUCHI, R.; HIKOSAKA, K.; HIROSE, T. Does the photosynthetic light acclimation need change in leaf anatomy? **Plant Cell and Environment**, v. 26, p. 505-512, 2003.

OLIVEIRA, F. L.; ARAÚJO, A. P.; GUERRA, J. G. M. Crescimento e acumulação de nutrientes em plantas de taro sob níveis de sombreamento artificial. **Horticultura Brasileira**, v. 29, n. 3, p. 291-298, 2011.

OLTRAMARI, A. C. et al. Canela sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer): análise histórica e de mercado da atividade extrativista da biomassa lignocelulósica e do óleo essencial no Estado de Santa Catarina. **Revista Árvore**, v. 26, p. 99-106, 2001.

- OLTRAMARI, A. C. et al. Safrole analysis by GC-MS of prototrophic (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer) cell cultures. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 78, n. 3, p. 231-235, 2004.
- PERI, P. L. et al. Photosynthetic response to different light intensities, water status and leaf age of two *Berberis* species (Berberidaceae) of Patagonian steppe, Argentina. **Journal of Arid Environments**, v. 75, n. 11, p. 1218-1222, 2011.
- PINTO, S. R. R. et al. Landscape attributes drive complex spatial microclimate configuration of Brazilian Atlantic forest fragments. **Tropical Conservation Science**, v. 3, n. 4, p. 389-402, 2010.
- POORTER, H. et al. Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. **New Phytologist**, v. 193, p. 30–50, 2012.
- PORTES, M. T. et al. Evidence of higher photosynthetic plasticity in the early successional *Guazuma ulmifolia* Lam. compared to the late successional *Hymenaea courbaril* L. grown in contrasting light environments. **Brazilian Journal of Biology**, v. 70, p. 75-83, 2010.
- PREVEDELLO, J. A.; VIEIRA, M. V. Does the type of matrix matter? A quantitative review of the evidence. **Biodiversity Conservation**, v. 19, p. 1205–1223, 2010.
- PRIMACK, R. B. **A primer of conservation biology**. 4th ed Sinauer Associates. Sunderland (Mass.). 2008.
- QUINET, A. et al. **Lauraceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB8440>>. Acesso em: 30 Jan. 2015
- RABELO, R. G. et al. Structural and ecophysiological adaptations to Forest gaps. **Trees**, v.27, p. 259-272, 2013.
- REICH, P. B. et al. Different photosynthesis-nitrogen relations in deciduous hardwood and evergreen tree species. **Oecologia**, v. 104, p. 24–30, 1995.
- REITZ, R.; KLEIN, R. M.; REIS, A. Projeto Madeira de Santa Catarina. **Sellowia**, n. 28/30, p. 3-320, 1978.

RIAÑO, K.; BRIONES, O. Leaf physiological response to light environment of three tree fern species in a Mexican cloud forest. **Journal of tropical Ecology**, v. 29, n. 03, p. 217-228, 2013.

RIBEIRO, R.V.; MACHADO, E. C. Some aspects of citrus ecophysiology in subtropical climates: re-visiting photosynthesis under natural conditions. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, v.19, p.393-411, 2007.

ROSSATO, D. R.; KOLB, R. M. *Gochnatia polymorpha* (Less.) Cabrera (Asteraceae) changes in leaf structure due to differences in light and edaphic conditions. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 605-612, 2010.

ROSSATTO, D. R. et al. Características funcionais de folhas de sol e sombra de espécies arbóreas em uma mata de galeria no Distrito Federal, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, n. 3, p. 640-647, 2010.

ROZENDAAL, D. M. A.; HURTADO, V. H.; POORTER, L. Plasticity in leaf traits of 38 tropical tree species in response to light; relationships with light demand and adult stature. **Functional Ecology**, v. 20, p. 207–216, 2006.

SABBI, L. B. C.; ÂNGELO, A. C.; BOEGER, M. R. Influência da luminosidade nos aspectos morfoanatômicos e fisiológicos de folhas de *Schinus terebinthifolius Raddi* (Anacardiaceae) implantadas em duas áreas com diferentes graus de sucessão, nas margens do Reservatório Iraí, Paraná, Brasil. **IHERINGIA**, Sér. Bot., Porto Alegre, v. 65, n. 2, p. 171-181, 2010.

SACK, L. et al. How strong is intracanalopy leaf plasticity in temperate deciduous trees? **American Journal of Botany**, v. 93, p. 829–839, 2006.

SEARLE, S. Y. et al. Leaf respiration and alternative oxidase in field-grown alpine grasses respond to natural changes in temperature and light. **New Phytologist**, v.189, p.1027-1039, 2011.

SENDALL, K. M.; REICH, P. B. Variation in leaf and twig CO₂ flux as a function of plant size: a comparison of seedlings, saplings and trees. **Tree Physiology**, v. 33, p. 713-729, 2013.

SIMS, D. A.; PEARCY, R. W. Scaling sun and shade photosynthetic acclimation of *Alocasia macrorrhiza* to whole-plant performance—I. Carbon balance and allocation at

different daily photon flux densities. **Plant, Cell & Environment**, v. 17, n. 8, p. 881-887, 1994.

SOUZA, G. M. et al. Diurnal and seasonal carbon balance of four tropical tree species differing in successional status. **Brazilian Journal of Biology**, v. 68, n. 4, p. 781-793, 2008.

SOUZA, B. D. et al. Ecophysiology parameters of four Brazilian Atlantic Forest species under shade and drought stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 32, n. 4, p. 729-737, 2010.

STERCK, F. J. et al. Performance of trees in forest canopies: explorations with a bottom-up functional–structural plant growth model. **New Phytologist**, v. 166, p. 827–843, 2005.

TABARELLI, M. et al. Edge-effects Drive Tropical Forest Fragments towards an Early-Successional System. **Biotropica**, v. 40, n. 6, p. 657–661, 2008.

TERASHIMA, I. et al. Leaf functional anatomy in relation to photosynthesis. **Plant Physiology**, v. 155, n. 1, p. 108-116, 2011.

TOSENS, T. et al. Developmental changes in mesophyll diffusion conductance and photosynthetic capacity under different light and water availabilities in *Populus tremula*: how structure constrains function. **Plant, Cell and Environment**, v. 35, n. 5, p. 839-856, 2012.

VALLADARES, F.; NIINEMETS, Ü. Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, p. 237-257, 2008.

VARTY, N. 1998. *Ocotea pretiosa*. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2014.3. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 24 Jan 2015.

VIEIRA, T. O. et al. Estresse luminoso em plântulas de jequitibá-rosa (*Cariniana legalis*, Lecythidaceae): monitoramento da capacidade de aclimação fotossintética sob duas intensidades de luz. **Vértices**, Campos dos Goytacazes/RJ, v. 13, n.3, p. 129-142, 2012.

VON CAEMMERER, S.; FARQUHAR, G. D. Some relationships between the biochemistry of photosynthesis and the gas exchange of leaves. **Planta**, v. 153, p. 376–387, 1981.

WAGNER, R. et al. The long-term response to fluctuating light quality is an important and distinct light acclimation mechanism that supports survival of *Arabidopsis thaliana* under low light conditions. **Planta**, v. 228, p. 573-587, 2008.

YAMASHITA, N. et al. Acclimation to sudden increase in light favoring an invasive over native trees in subtropical islands, Japan. **Oecologia**, v. 125, p. 412-419, 2000.

ARTIGO: THE LEAF MORPHOLOGICAL RESPONSES AND PHOTOSYNTHETIC PERFORMANCE OF *OCOTEA ODORIFERA* (VELL.) ROHWER (LAURACEAE) TO DIFFERENT RADIATION AVAILABILITY.

AUTORES: Gabriele Marques Leme; Flavio Nunes Ramos; Marcelo Polo.

Artigo redigido conforme as normas da revista *Tree Physiology* (Oxford Journals).

**THE LEAF MORPHOLOGICAL RESPONSES AND PHOTOSYNTHETIC PERFORMANCE OF
OCOTEA ODORIFERA (VELL.) ROHWER (LAURACEAE) TO DIFFERENT RADIATION
AVAILABILITY**

Gabriele Marques Leme¹; Flavio Nunes Ramos¹ & Marcelo Polo^{1*}

¹Laboratório de Ecologia de Fragmentos Florestais (ECOFRAG), Instituto de Ciências da Natureza, Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG), Rua Gabriel Monteiro da Silva, n.700, Alfenas, MG. CEP 37130-000, Brazil. Tel 0055353299-1447. *Author for correspondence: marcelo.51.polo@gmail.com

Abstract

In the field, leaves from tree species experience a range of light intensities in a fragmented landscape and they tend to adjust some ecophysiological features through acclimation. In order to improve our understanding of this phenomenon, we investigated the relationships between leaf anatomy and gas exchange parameters of a shade-tolerant tree species, *Ocotea odorifera*, taking into account different light regimes (sun and shade leaves) provided by both forest interior and forest edge from the fragments and their surrounding pasture matrix. To characterize the three light environments, we measured microclimatic data. For the gas exchange analysis, we investigated net photosynthesis, intercellular carbon dioxide concentration, transpiration rate, and stomatal conductance; and for the leaf anatomy analysis, we investigated the stomatal density and the thickness of the abaxial and adaxial epidermis, the palisade and spongy parenchyma, the mesophyll and the total lamina thickness. The responses of leaves to changes in light intensity during the study varied among the three environments. Sun leaves from the pasture matrix had the most photosynthetic potential, supported by the highest values of net photosynthesis, stomatal conductance, stomatal density, both parenchyma thickness and leaf lamina thickness. We concluded that *O. odorifera* can achieve efficient photosynthetic acclimation in full sunlight and in shaded environments, and this may represent a selective advantage in unstable environments.

Keywords Sun leaves · Shade leaves · Shade-tolerant species · Light environments · Pasture matrix · Photosynthetic efficiency

Introduction

Light from solar radiation is an essential resource for plants, acting in plant establishment, growth and survival (Fukuda et al. 2008; Valladares and Niinemets 2008). The intensity and quality of light, as with other microclimatic parameters, vary within environments (Barros et al. 2012; Reyer et al. 2013; Wagner et al. 2008) and may modify the physiology, anatomy, and morphology of leaves (Hogewoning et al. 2010; Macedo et al. 2011). Likewise, plants growing under different light conditions may adjust their photosynthetic apparatus through acclimation or phenotypic plasticity (Valladares and Niinemets 2008; Wagner et al. 2008) and may accomplish better efficiency (Athanasidou et al. 2010). Moreover, in response to these changes in light availability, leaf plants may also show anatomical (Weston et al. 2000) and physiological differences (Murchie and Horton 1997) between sun and shade leaves to prevent or mitigate light damage (Fan et al. 2013).

Sun leaves have higher photosynthetic capacity, mainly due to the formation of thicker leaves (Fan et al. 2013). Such leaves permit a large number of chloroplasts in the mesophyll cells, since the chloroplasts contain the photosynthetic enzymes (Oguchi et al. 2003). Consequently, there is a positive correlation between photosynthetic capacity and both the leaf thickness and the surface area of the mesophyll cells (Terashima et al. 2011). On the contrary, shade leaves are thinner (Athanasidou et al. 2010) and less resistant (Rozendaal et al. 2006), therefore, to maximize light uptake, they invest more in leaf area (Evans and Poorter 2001) and height (Steinger et al. 2003).

The ability to acclimate to increases in light intensity varies among species, although most have at least some modification in the photosynthetic capacity (Gratani 2014). Early successional and light-demanding species are likely to have a higher photosynthetic plasticity and capacity for higher acclimation than late successional and shade tolerant species (Longuetaud et al. 2013; Portes et al. 2010). However, there is increasing evidence that acclimation potential is not always related to the successional status of the plant species (Kuptz et al. 2010; Souza et al. 2008; Wyka et al. 2007). Krause et al. (2012), for example, found that a late successional tree species was capable of growing under full sunlight, demonstrating that the ability to tolerate high light environments such as pastures is species-specific, and such ability may represent a selective advantage.

Most studies concerning on acclimating processes of plants have been conducted within species exposed to a series of radiation intensities (Athanasidou et al. 2010). A few works focused on photosynthetic

responses of forest species to the light condition in the field (e.g., Abrams and Mostoller 1995; Carswell et al. 2000; Domingues et al. 2007; Ramos and Grace 1990); other studies have investigated the photosynthetic responses of seedlings grown under different environments (e.g., Loik and Holl 1999; 2001). Thus, we aimed to gain insights into these adaptive processes in tree species by investigating the relationships between leaf anatomy and photosynthetic traits under different light conditions. More precisely, to investigate the plasticity and possibly different acclimation of *Ocotea odorifera* trees along a radiation gradient taking into account seasonal variations in environmental conditions. We hypothesized that the dynamics of photosynthetic efficiency and the survival of these trees is mediated by the acclimation reached by the leaf developed throughout the growing season. The results from this study may indicate plant tolerance and acclimation to shade and light conditions, in addition provides information if the species are particularly vulnerable or not to restorations programs in open habitats.

Materials and Methods

Tree species and study sites

Ocotea odorifera (Vell.) Rohwer (Lauraceae), commonly known as sassafras, is a Brazilian native tree species of the Atlantic Rainforest that occurs in the States of the southern and southeastern regions of Brazil and in some parts of the Bahia State (Carvalho 2005). The species is prized for the quality of its wood but particularly for the essential oil components that contain safrole (Mossi et al. 2013), which was very exported to countries like Japan, United States and some European countries (Oltamari et al. 2001). Because of its indiscriminate exploitation, *O. odorifera* was included in the Brazilian checklist of threatened plant species (IBAMA 2008) and considered vulnerable according to The World Conservation Union Red List of Threatened Species (IUCN 2014). Sassafras seedlings requires shade of low to medium intensity and the tree is considered a late secondary to climax species in the ecological successional group (Whitmore 1990). We chose this species due to its ecological importance, its endangered status and mostly because it occurs on both forest edge and forest interior habitats and on the pasture matrix adjacent to the forest fragment. The individuals chosen in our study reached no more than 6 m high, and the measurements were taken at a height of approximately 2 m.

The study took place in three forest fragments nearby Alfenas city (21°25'45''S, 45°56'50''W and 880 m altitude), southern Minas Gerais, Brazil, from December/2013 to September/2014. This is an Atlantic forest area with semi-deciduous vegetation and a Cwa type climate (Köppen 1948), with warm and rainy summers and cold and dry winters. Climate data for mean air temperature and accumulated precipitation during the study were taken from the meteorological station of Cooxupé situated in Alfenas, less than 15 km away from the study sites, to characterize the climate of the area (Fig 1).

The forests from this region are highly fragmented, with only 9% remaining of the original vegetation cover. Most areas are dedicated to agriculture, particularly pastures (51%), perennial crops (17%) such as coffee, and annual crops (7%), such as sugarcane and corn (Olivetti et al. unpublished data). The forest fragments studied were surrounded by pasture. We investigated three environments in which naturally occurs individuals of *O. odorifera*: (1) the pasture matrix, (2) the forest edge, and (3) the forest interior (at least 200 m away from any edge).

Microclimatic data

In order to compare the microclimate among the environments we measured the following variables: (1) air temperature, (2) soil temperature, and (3) irradiance. Variables 1 and 2 were measured with a portable digital thermometer and the variable 3 was measured with a solar power meter (Mod. MES-100, Instrutherm Instrumentos de Medição Ltda, SP, Brazil). All the measures were taken at three fixed points in each environment per forest fragment, and the fixed points are represented by *O. odorifera* trees, with one measure adjacent to each tree and another below the canopy. These two measurements per tree resulted in conditions as follows: sunlit pasture, shaded pasture, sunlit forest edge, shaded forest edge, sunlit forest interior, and shaded forest interior. The measurements were limited to morning hours (9:00–12:00 h), and only on days with similar weather (cloudless sunny days) in both wet (sampling in Dec/2013 and in Mar/2014) and dry (sampling in Jun/2014 and in Sep/2014) seasons.

Gas exchange measurements

Net photosynthesis (A_N), intercellular carbon dioxide concentration (C_i), transpiration rate (E), and stomatal water conductance (g_s) were measured with an infrared gas analyzer (LI-6400XT, Li-Cor Inc., NE, USA). Leaf temperature was maintained at 28°C and the photosynthetically active photon flux density

(PPFD) at $1400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$. All measurements were performed in the field on fully expanded, mature leaves from nodes 2–3 from the base of the shoots, without significant damage by herbivores. Three plant individuals per light environment (forest interior, forest edge and pasture) were selected at random and gas exchange parameters measured on ten leaves per plant, of which five were shade leaves (inner canopy) and the other five were sun leaves (out of the crown). These measurements resulted in the following conditions: sun pasture leaves, shade pasture leaves, sun forest edge leaves, shade pasture edge leaves, sun forest interior leaves, and shade forest interior leaves. Gas exchange measurements were at the same time as those of microclimatic data.

Leaf quantitative anatomy

For anatomical analysis, we collected 6 fully expanded leaves per environment from the 3-4 nodes of the trees, which were fixed in FAA for 72 hours, and later stored in 70 % ethanol. Samples were dehydrated by a graded ethanol series, and embedded in resin as described for electron microscopy. Sections ($12\text{-}\mu\text{m}$) were cut using an HM 340E electronic rotary microtome (Thermo Fisher Scientific, Shanghai, China) with a glass knife. The sections were affixed to glass slides, and stained for 5 minutes in 0.06% toluidine blue solution. We examined three sections per glass slide with a light microscope (ZEISS AxioLab.A1, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Germany) and take photographs using an attached digital camera (ZEISS AxioCam ERc 5s, Germany). From the interveinal region in the cross sections, in three randomly selected microscopic fields, we measured anatomical traits as follows: abaxial and adaxial epidermis thickness (ET_{ad} ; ET_{ab}), the palisade and spongy parenchyma thickness (PT; ST), the mesophyll thickness (T_{m}), and the total leaf blade, totaling 54 data by each environment. Leaf area from sun and shade leaves were obtained in the field with a Handheld Laser Leaf Area Meter (CI-20, CID Bio-Science, WA USA), with 81 collected data from each leaf type.

The leaves of *O. odorifera* are hypostomatous; thus, we calculated stomatal density (S_{D}) by taking impressions of abaxial leaf epidermis at the widest point of the leaf near the central vein, using the technique of printing with instant adhesive (methacrylate ester/Super-Bonder®). For the impressions, one leaf was selected in each tree, the same trees used for gas exchange measurements, totaling 9 leaves per environment (forest interior, forest edge and pasture). All impressions were fixed on glass slides and examined under a light microscope (ZEISS AxioLab.A1, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Germany) equipped for a ZEISS

Axiocam ERc 5s (Germany) digital camera, using the x10 objective. Three microscopic fields from the abaxial leaf surface were randomly selected per leaf. Stomata were counted and stomatal density was calculated as the number of stomata per unit of leaf area (mm^2).

Statistical analysis

We compared the gas exchange variables (A_N , C_i , E and g_{ss}) among the six leaf conditions (sun pasture leaves, shade pasture leaves, sun forest edge leaves, shade forest edge leaves, sun forest interior leaves, and shade forest interior leaves) by Kruskal–Wallis (Dunn test as post hoc tests) after homoscedastic and normality tests. We compared the leaf anatomy variables (ET_{ad} ; ET_{ab} ; PT; ST; T_m and LA) among the leaf conditions using one-way ANOVA, followed by Tukey's multiple comparison. The normality of the distribution and the homogeneity of variance were assessed before analysis using the D'Agostino-Pearson test and the Levene test, respectively.

Results

Microclimatic data

The microclimatic conditions differed between the three habitats in both seasons. Irradiance (W.m^{-2}), as well as air and soil temperature ($^{\circ}\text{C}$) were higher ($p < 0.05$) in the sunlit pasture (I_P) and in the sunlit forest edge (I_E) in the wet season, while in the dry season the variable of soil temperature was the only one that did not differ between habitats. (Fig 2).

Gas exchange parameters in both rainy and dry season

Shade and sun leaves from the three light environments differed from each other in all variables: sun leaves had higher net photosynthesis, carboxylation rate, stomatal conductance and transpiration rate than shade leaves in both seasons (Fig 3).

Sun pasture leaves had a significant photosynthetic capacity with high values for A_N , g_s and E in both seasons, while shade forest interior leaves exhibited the lowest values for these same variables, also in both seasons (Fig 4). Values of C_i on forest interior leaves were significantly higher than those of leaves in the other two microhabitats.

Anatomical leaf measurements

Comparisons between sun and shade leaves distributed in the three environments (forest interior, forest edge and pasture matrix) showed differences for all leaf anatomical measurements (Table 1). For all of the variables studied, sun leaves had higher values than shade leaves, except for ST and LA. With regard to the plants in the three environments, pasture leaves presented the highest values for all of the variables. This study shows that the leaf tissue thickness decreased significantly in the forest interior leaves as compared to the pasture leaves. Marked changes were observed in the PT, ET_{ad} and ET_{ab} , since these parameters decreased by approximately 34%, 25% and 18% respectively, in the forest interior leaves, when compared to the pasture ones. For stomatal density, the forest interior leaves had the lowest values, while the pasture leaves had the highest values, and the forest edge leaves were intermediate or similar to interior.

Discussion

Important modifications in leaf anatomy and photosynthetic traits occurred in fully expanded leaves throughout the light environment and the growing season. The responses of leaves to changes in light intensity during the study varied among the three environments (Fig 4 and Table 1). The higher photosynthetic rates of sun leaves from the pasture and forest edge, in both seasons, are supported by the higher stomatal conductance (Sack et al. 2006; Santiago and Kim 2009). This may be due to the high irradiance availability and the low competition for light between plant species in these environments. In contrast, there was a decrease in stomatal conductance under low light environment (forest interior leaves) and an increase of intercellular CO_2 concentration, and this would explain the decrease of net photosynthesis. With the forest interior leaves and shaded forest edge leaves, during the drought season, the net photosynthesis reached negative values when stomatal conductance was still positive (Fig 4). This can be explained not only by the fact that there is less light availability in these environments and, consequently, an increased competition among species for capturing this light, but also by the value of PPFD used in the gas exchange chamber, which may have caused photoinhibition of these leaves with higher respiration than photosynthesis.

It is likely that forest interior leaves are capable of high photosynthetic rates as much as sun pasture leaves, but in a lower PPFD condition, since the difference between these leaves was not so discrepant (Fig. 4a,b). Using $1400 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ of PPFD in the gas exchange chamber, we may have caused the

photoinhibition of the forest interior leaves photosystem, since these leaves are acclimated to shade environments and this level of PPFD is possibly highly above saturation of photosynthetic CO₂ assimilation.

The stomatal density is an important indicator of photosynthetic efficiency of plant species, and the differences in stomatal density reflects directly on the stomatal conductance (Baroli et al. 2008), with higher stomatal density giving higher stomatal conductance (Lee et al. 2007). Therefore, the sun leaves, with their high stomatal conductance, had a lower resistance to gas exchange, favoring a greater intake of CO₂ and increasing the carbon assimilation process, while shade leaves had a decrease in diffuse CO₂ uptake that restrained net photosynthesis (Lawson et al. 2011). Morphological adjustments also play an important influence on photosynthesis (Ivancich et al. 2014): the enhanced palisade parenchyma thickness causes an increase of chloroplasts, and thus more enzymes (Rubisco) and chlorophyll; which may improve the penetration of light to the chloroplasts and allow more CO₂ fixation (Ivancich et al. 2014; Zivcak et al. 2014). And greater palisade tissue thickness, together with spongy tissue and epidermal tissue thickness, provides an increase in the leaf thickness of sun leaves compared to shade leaves, indicating that the internal structure of the leaf may play a significant role in light capture (Evans and Poorter 2001; Niinemets 2001; Wyka et al. 2007). The shade leaves (forest interior), are thinner and larger than sun leaves because photoassimilates are deployed to the expansion of leaf area for better light absorption (Taiz and Zeiger 2004).

Thicker leaves are typical of sun leaves and are likely to invest in more photosynthetic tissues, and therefore have a greater photosynthetic capacity, as observed in this study with *O. odorifera*. The species is probably C₃ and may suffer some photoinhibition by photorespiration, so the greater thickness of the epidermis together with greater PT, allows the plant attenuate the radiation and avoid the photoinhibition. Furthermore, the increase of adaxial epidermis thickness in sun leaves controls the transpiration rate excess and helps maintain acceptable rates for the plant. Sun leaves also need to be prevented from overheating, which may be achieved through an increase in transpiration rate, and this increase in transpiration rate may indicate that the leaves of individuals from pasture and forest edge have a large water supply, which is probably enabled by thick internodes in proportion to leaf area (Rozendaal et al. 2006). Thus, we found in our study a positive correlation between stomatal conductance, stomatal density, leaf thickness,

transpiration rate and net photosynthesis. All these variables have an important role as indicators of photosynthetic capacity and, consequently, photosynthetic acclimation to different light conditions.

Conclusion

This study provides observations as to how plants may adapt to different environmental pressures, and may contribute to a better understanding of forest-climate interactions. Our study indicates that *Ocotea odorifera* has a high morphophysiology plasticity since it has potential to acclimate and grow in different environmental conditions, and thus it can have success in shaded environments as open ones. Therefore, this species may have competitive advantages that permit it to cope successfully with a changing environment. Our results may also have practical implications for designing protocols of forest restoration projects involving native species in degraded areas, since the species *O. odorifera* can occur in a range of habitats, indicating that resource managers should give more attention to this species. Knowing how the species behave and adapt to environmental conditions can indicate whether or not it is appropriate to certain locations, since the failure of many restoration projects occur due to the inappropriate choice of the species used.

Funding

This study was funded by Universidade Federal de Alfenas-MG, Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), and Companhia Vale do Rio Doce (VALE) (CRA-RDP-0104-10). G.M.L. was supported by the Fundação do Ministério da Educação – CAPES, which provided a scholarship.

Acknowledgements

We are grateful to Eduardo L. Abreu, Vinícius de Toledo and Gabriel A. Diniz for the valuable help with the fieldwork, and to Peter E. Gibbs for the English revision.

Conflict of interest

None declared.

References

- Abrams MD, Mostoller SA (1995) Gas exchange, leaf structure and nitrogen in contrasting successional tree species growing in open and understory sites during a drought. *Tree Physiol* 15:361-370.
- Athanasίου K, Dyson BC, Webster RE, Johnson GN (2010) Dynamic Acclimation of photosynthesis increases plant fitness in changing environments. *Plant Physiol* 152:336-373.
- Baroli I, Price GD, Badger MR, von Caemmerer S (2008) The contribution of photosynthesis to the red light response of stomatal conductance. *Plant Physiol* 146:737-747.
- Barros FDV, Goulart MF, Sá Telles SB, Lovato MB, Valladares F, de Lemos-Filho JP (2012) Phenotypic plasticity to light of two congeneric trees from contrasting habitats: Brazilian Atlantic Forest versus cerrado (savanna). *Plant Biol* 14:208-215.
- Carswell FE, Meir P, Wandelli EV, Bonates LCM, Kruijt B, Barbosa EM, Jarvis PG (2000) Photosynthetic capacity in a central Amazonian rain forest. *Tree Physiol* 20:179-186.
- Carvalho PER (2005) Canela-sassafrás. Circular técnica, 110. Colombo: EMBRAPA Florestas, 12p.
- Domingues TF, Martinelli LA, Ehleringer JR (2007) Ecophysiological traits of plant functional groups in forest and pasture ecosystems from eastern Amazonia, Brazil. *Plant Ecol* 193:101-112.
- Evans JR, Poorter H (2001) Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant Cell Environ* 24:755-767.
- Fan XX, Xu ZG, Liu XY, Tang CM, Wang LW, Han XL (2013) Effects of light intensity on the growth and leaf development of young tomato plants grown under a combination of red and blue light. *Sci Horticult* 153:50-55.
- Fukuda N, Fujita M, Ohta Y, Sase S, Nishimura S, Ezura H (2008) Directional blue light irradiation triggers epidermal cell elongation of abaxial side resulting in inhibition of leaf epinasty in geranium under red light condition. *Sci Horticult* 115:176-182.
- Gratani L (2014) Plant Phenotypic Plasticity in Response to Environmental Factors. *Advances in Botany* 2014; 17pp.
- Hogewoning SW, Trouwborst G, Maljaars H, Poorter H, van Ieperen W, Harbinson J (2010) Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. *J Exp Bot* 61:3107-3117.

- IBAMA (2008) - Instrução Normativa N° 06, de 23 de setembro de 2008 (Lista Oficial de Espécies da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção).
- Ivancich HS, Lencinas MV, Pastur GJM, Esteban RMS, Hernández L, Lindstrom I (2014) Foliar anatomical and morphological variation in *Nothofagus pumilio* seedlings under controlled irradiance and soil moisture levels. *Tree Physiol* 32:554–564.
- Köppen W (1948) *Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra*. Fondo de Cultura Económica, México.
- Krause GH, Winter K, Matsubara S, Krause B, Jahns P, Virgo A, García M (2012) Photosynthesis, photoprotection, and growth of shade-tolerant tropical tree seedlings under full sunlight. *Photosynth Res* 13:273-285.
- Kuptz D, Grams TEE, Günter S (2010) Light acclimation of four native tree species in felling gaps within a tropical mountain rainforest. *Trees* 24:117–127.
- Lawson T, Caemmerer S, Baroli I (2011) Photosynthesis and stomatal behaviour. *J Prog Bot* 72: 265–304.
- Lee SH, Tewari RK, Hahn EJ, Paek KY (2007) Photon flux density and light quality induce changes in growth, stomatal development, photosynthesis and transpiration of *Withania Somnifera* (L.) Dunal plantlets. *J Plant Cell Tiss Org Cult* 90:141–151.
- Loik ME, Holl KD (1999) Photosynthetic responses to light for rainforest seedlings planted in abandoned pasture, Costa Rica. *Restor Ecol* 7:382-391.
- Loik ME, Holl KD (2001) Photosynthetic responses of tree seedlings in grass and under shrubs in early-successional tropical old fields, Costa Rica. *Oecologia* 127:40-50.
- Longuetaud F, Piboule A, Wernsdörfer H, Collet C (2013) Crown plasticity reduces inter-tree competition in a mixed broadleaved forest. *E J For Res* 132:621–634.
- Macedo AF, Leal-Costa MV, Tavares ES, Lage CLS, Esquibel MA (2011) The effect of light quality on leaf production and development of in vitro-cultured plants of *Alternanthera brasiliana* Kuntze. *Environ Exp Bot* 70:43-50.
- Mossi AJ, Zanella CA, Kubiak G, Lerin La, Cansian RL, Frandoloso FS, Dal Prá V, Mazutti MA, Costa JAV, Treichel H (2013) Essential oil of *Ocotea odorifera*: An alternative against *Sitophilus zeamais*. *Renew Agri Food Syst* p. 1-6.

- Murchie EH, Horton P (1997) Acclimation of photosynthesis to irradiance and spectral quality in British plant species: chlorophyll content, photosynthetic capacity and habitat preference. *Plant Cell Environ* 20:438–448.
- Niinemets Ü, Lukjanova A, Turnbull MH, Sparrow AD (2007) Plasticity in mesophyll volume fraction modulates light-acclimation in needle photosynthesis in two pines. *Tree Physiol* 27:1137–1151.
- Oguchi R, Hikosaka K, Hirose T (2003) Does the photosynthetic light acclimation need change in leaf anatomy? *Plant Cell Environ* 26:505–512.
- Oltramari AC (2001) Canela sassafrás (*Ocotea odorifera* (Vell.) Rohwer): análise histórica e de mercado da atividade extrativista da biomassa lignocelulósica e do óleo essencial no Estado de Santa Catarina. *Revista Árvore* 26: 99–106.
- Portes MT, Damineli DSC, Ribeiro RV, Monteiro JAF, Souza GM (2010) Evidence of higher photosynthetic plasticity in the early successional *Guazuma ulmifolia* Lam. compared to the late successional *Hymenaea courbaril* L. grown in contrasting light environments. *Braz J Biol* 70:75-83.
- Ramos J, Grace J (1990) The effects of shade on the gas exchange of seedlings of four tropical trees from Mexico. *Funct Ecol* 667-677.
- Reyer CPO, Leuzinger S, Rammig A, Wolf A, Bartholomeus RP, Bonfante A, De Lorenzi F, Dury M, Gloning P, Abou Jaoudé R, Klein T, Kuster TM, Martins M, Niedrist G, Riccardi M, Wohlfahrt G, De Angelis P, De Dato G, François L, Menzel A, Pereira M (2013) A plant's perspective of extremes: terrestrial plant responses to changing climatic variability. *Global Change Biol* 19:75–89.
- Rozendaal DMA, Hurtado VH, Poorter L (2006) Plasticity in leaf traits of 38 tropical tree species in response to light; relationships with light demand and adult stature. *Funct Ecol* 20:207–216.
- Sack L, Melcher PJ, Liu W, Middleton E, Pardee T (2006) How strong is intracanopy leaf plasticity in temperate deciduous trees? *Am J Bot* 93:829–839.
- Santiago LS, Kim SC (2009) Correlated evolution of leaf shape and physiology in the woody *Sonchus* alliance (Asteraceae: Sonchinae) in Macaronesia. *Int J Plant Sci* 170: 83–92.
- Souza GM, Ribeiro RV, Sato AM, Oliveira MS (2008) Diurnal and seasonal carbon balance of four tropical tree species differing in successional status. *Braz J Biol* 68:781-793.
- Steinger T, Roy BA, Stanton ML (2003) Evolution in stressful environments II: adaptive value and costs of plasticity in response to low light in *Sinapis arvensis*. *J Evol Biol* 16:313–323.

- Taiz. L.; Zeiger, E. 2004. *Fisiologia Vegetal*. 3 ed., Porto Alegre, 719 p.
- Terashima I, Hanba YT, Tholen D, Niinemets Ü (2011) Leaf functional anatomy in relation to photosynthesis. *Plant Physiol* 155:108-116.
- Valladares F, Niinemets Ü (2008) Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annu Rev Ecol Evol Sys* 38:237–257.
- Varty N (1998) *Ocotea pretiosa*. In: IUCN 2013. IUCN Red List of Threatened Species. <www.iucnredlist.org>. accessed in September 20th 2014.
- Wagner R, Dietzel L, Bräutigam K, Fischer W, Pfannschmidt T (2008) The long-term response to fluctuating light quality is an important and distinct light acclimation mechanism that supports survival of *Arabidopsis thaliana* under low light conditions. *Planta* 228:573-587.
- Weston E, Thorogood K, Vinti G, Lopez-Juez E (2000) Light quantity controls leaf-cell and chloroplast development in *Arabidopsis thaliana* wild type and blue-light perception mutants. *Planta* 211:807-815.
- Whitmore TC (1990) Tropical rain forest dynamics and its implications for management. *In*: Gomes-Pompa A., Whitmore TC, Hadley M. Rain forest regeneration and management. Paris, Unesco and the Paragon Publishing Group, p. 67-89.
- Wyka T, Robakowski R, Zytowski R (2007) Acclimation of leaves to contrasting irradiance in juvenile trees differing in shade tolerance. *Tree Physiol* 27:1293–1306.
- Zivcak M, Brestic M, Kalaji HM, Govindjee (2014) Photosynthetic responses of sun- and shade-grown barley leaves to high light: is the lower PSII connectivity in shade leaves associated with protection against excess of light? *Photosynth Res* 119:339-354.

Table 1 Thickness of the different leaf layers, and stomatal density in the sassafras trees leaves of three habitats differing in light interception: forest interior, forest edge and pasture matrix; and between leaf light regime: sun and shade leaves.

Parameters	<i>n</i>	Sun leaves	Shade leaves	Pasture matrix	Forest Edge	Forest Interior
ET _{ad} (μm)		11.44 ± 0.24 A	9.23 ± 0.26 B	10.13 ± 0.30 a	7.72 ± 0.11 b	7.62 ± 0.13 b
ET _{ab} (μm)		8.76 ± 0.21 A	7.68 ± 0.15 B	8.72 ± 0.20 a	6.92 ± 0.09 b	7.12 ± 0.13 b
PT (μm)	54	66.51 ± 1.74 A	45.39 ± 0.65 B	58.86 ± 2.02 a	47.32 ± 0.66 b	38.78 ± 0.54 c
ST (μm)		140.98 ± 2.54 B	150.09 ± 2.60 A	150.86 ± 2.41 a	133.57 ± 3.19 b	131.76 ± 3.24 b
T _m (μm)		210.78 ± 2.01 A	193.53 ± 3.07 B	207.72 ± 2.71 a	181.08 ± 2.67 b	170.07 ± 3.22 c
LT (μm)		227.68 ± 2.52 A	212.39 ± 2.96 B	228.64 ± 3.06 a	195.53 ± 3.13 b	185.27 ± 3.60 b
LA (mm ²)		41.16 ± 1.37 B	51.87 ± 1.50 A	-	-	-
S _D (mm ²)	36	371.58 ± 12.70 A	284.67 ± 9.70 B	361.48 ± 12.26 a	304.56 ± 13.89 b	222.04 ± 2.85 c

Data are mean ± SE (one-way ANOVA, $p < 0.05$). ET_{ad}, adaxial epidermis cell thickness; ET_{ab}, abaxial epidermis cell thickness; PT, palisade tissue thickness; ST, spongy tissue thickness; T_m, mesophyll thickness; LT, leaf thickness; S_D, stomatal density. Different letters in the same row indicate significant differences at $p < 0.05$ (Tukey's test).

List of Captions of Figures

Figure 1 Microclimatic data for precipitation (line) and mean air temperature (bars) in the study area.

Figure 2 Microclimatic variation among environments investigated in both rainy (a, c and e) and dry (b, d and f) seasons. **(a)** – Light intensity (w/m^2); **(b)** - Air temperature ($^{\circ}\text{C}$); **(c)** - Soil temperature ($^{\circ}\text{C}$). I_P = sunlit pasture; S_P = shaded pasture; I_E = sunlit forest edge; S_E = shaded forest edge; I_I = sunlit forest interior; S_I = shaded forest interior. Different lowercase letters indicate statistical differences among environments (Tukey's test).

Figure 3 Ecophysiological responses variations among sun and shade leaves from habitats investigated in both rainy (a, c, e, g and i) and dry (b, d, f, h and j) seasons. Different lowercase letters indicate statistical differences between sunlit and shaded leaves from the three habitats (Tukey's test).

Figure 4 Ecophysiological responses variations among leaves from habitats investigated in both rainy (a, c, e, g and i) and dry (b, d, f, h and j) seasons. I_P = sunlit pasture leaves; S_P = shade pasture leaves; I_E = sunlit forest edge leaves; S_E = shaded forest edge leaves; I_I = sunlit forest interior leaves; S_I = shaded forest interior leaves. Different lowercase letters indicate statistical differences between sunlit and shaded leaves from the three habitats (Tukey's test).

